

THESIS

MUNICH

1966

DIE EINWIRKUNG VON NITROFURANTOIN (FURADANTIN^R)
AUF DIE MORPHOLOGIE VON STAPHYLOKOKKEN,
STREPTOKOKKEN, ENTEROKOKKEN, E. COLI,
PROTEUS VULGARIS, AEROBAKTER AEROGENES
SOWIE SALMONELLA TYPHI UND S. PARATYPHI 3

Detlev H u c k

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER PÄDIATRISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. D. Vogt

DIE EINWIRKUNG VON NITROFURANTOIN (FURADANTIN^R)
AUF DIE MORPHOLOGIE VON STAPHYLOKOKKEN,
STREPTOKOKKEN, ENTEROKOKKEN, E. COLI,
PROTEUS VULGARIS, AEROBAKTER AEROGENES
SOWIE SALMONELLA TYPHI UND S. PARATYPHI B

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Detlev H u c k
aus Aue im Erzgebirge

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv. - Doz. Dr. K. STEHR
Korreferent:	Prof. Dr. D. VOGT
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 13.12.1966

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	5
I. ÜBER RIESENFORMEN BEI BAKTERIEN	6
A. Historischer und Literaturüberblick	6
B. Bedingungen unter denen Riesenformen entstehen	7
1. unter Mangelbedingungen	7
2. durch Nährbodenzusätze	7
3. durch Zusatz anorganischer Salze	7
4. durch Desinfizientien und Chemotherapeutika	8
5. durch Bakteriophagen	9
6. durch physikalische Einwirkungen	9
a) verschiedene Strahlenarten, Kreuzresistenz zu Nitrofuranen	9
b) erhöhte Züchtungstemperatur	10
c) morphologisches Verhalten bei hohem Überdruck	11
7. Anormomorphogenetische Wirkung neuerer cytostatischer und antibiotischer Stoffe	12
8. Zur Wirkung der Nitrofurane	13
9. Riesenformen unter Nitrofuranen (Bisherige Beobachtungen)	14
Zusammenfassung	15
II. DAS FURADANTIN ^R (NITROFURANTOIN)	18
1. Die Nitrofurane. Allgemeines	18
2. Eigenschaften des Furadantins	19
3. Antibakterielle Wirkungsweise	20
4. Antibakterielle Wirksamkeit in vitro	21
III. MATERIAL UND METHODE	22
1. Allgemeines	22
2. Zur Herstellung der Konzentrationsreihe	22

3. Nährbodenherstellung	24
4. Herstellung der Agardeckglaspräparate	25
5. Verwendete Bakterienstämme	25
6. Versuche mit synthetischem Nährmedium	26
 IV. ERGEBNISSE	 27
1. mit grampositiven Kokken	27
2. mit gramnegativen Stäbchen	27
a) Aussehen der Riesenformen	27
b) Länge der Riesenformen	28
c) Beobachtung der Entwicklung der Riesenformen	28
d) weitere Entwicklung der Riesenformen	29
e) Beweglichkeit	30
f) Gramverhalten	30
 V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	 31
 ZUSAMMENFASSUNG	 33
 VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN	 34
 LITERATURVERZEICHNIS	 36
 ABBILDUNGEN	 45

E I N L E I T U N G

Harnwegsinfektionen stehen beim Kind nach den zyklischen Infektionskrankheiten und den Erkrankungen des Respirations- und Verdauungstraktes an vierter Stelle (84), unter den bakteriellen Erkrankungen rangieren sie sogar an zweiter Stelle (10, 51). Bei ihrer Behandlung hat das Furadantin^R (Nitrofurantoin) seit über zehn Jahren seinen festen Platz.

Enteritiscoli zeigen unter Einwirkung antibiotischer Substanzen morphologische Veränderungen ihres Bakterienleibes. Bei längerer Fortzüchtung auf antibiotikahaltigem Milieu sind auch Geißelveränderungen festzustellen. Eine gesteigerte Phagozytierungsfähigkeit, leichtere Agglutinierbarkeit und eine geringere Vermehrungsfähigkeit sind nachweisbar (69).

So sind nach Stehr (69) die klinischen Erfolge erklärbar, die sich bei Säuglingsenteritiden auch mit Medikamenten erzielen ließen, gegen die der untersuchte Keim in vitro resistent war.

Unterschiede zwischen dem aufgrund theoretischer Überlegung zu erwartenden und dem klinisch tatsächlich eintretenden Therapieerfolg finden sich bei der Behandlung der infektiösen Erkrankungen der Harnwege auch bei der Langzeittherapie der chronischen Pyelonephritis mit Furadantin.

Durch seinen außerordentlich niedrigen Blut- und Gewebsspiegel und seine rasche Ausscheidung scheint Furadantin zunächst für eine Langzeittherapie nicht geeignet zu sein. Es werden hier Medikamentspiegel erreicht, die nach allgemeiner bakteriologischer Erfahrung zur Sanierung einer Harnwegsinfektion nicht ausreichend sind (25). Besonders bemerkenswert ist, daß auch bei mehrmonatiger Anwendung keine Resistenzentwicklung eintritt (25). Die Erfolge der Dauerbehandlung werden vor allem mit der Unterdrückung der Reinfektion aus alten Herden erklärt. Wirksam sind die relativ hohen Medikamentspiegel im Harn. Es war interessant, nachzuprüfen, ob die Harnwegserreger unter bakteriostatischen Furadantindosen vergleichbare morphologische Veränderungen zeigen, wie sie für die Enteritiscoli (69) beschrieben wurden.

I. ÜBER RIESENFORMEN BEI BAKTERIEN

A. HISTORISCHER UND LITERATUR-ÜBERBLICK

Riesenformen bei Bakterien sind schon fast genau so lange bekannt, wie deren normale Erscheinungsformen. So berichten z.B. Guignard und Charrin 1887 über die Bildung von Fadenformen unter dem Einfluß verschiedener chemischer Stoffe bei *Ps. pyocyanea* (40); erst ein Jahr später erkannte Charrin in diesem Keim den Erreger des "blauen Eiters" (59). Eine ganze Reihe von Faktoren, die bei Abweichung von den normalen Züchtungsbedingungen die Bildung atypischer Formen auslösen, sind ebenfalls schon lange bekannt.

Gamaleia (18) untersuchte den Einfluß von Salzen, und beschrieb dabei als erster 1900 die Riesenformen, die durch LiCl entstehen. Aus einer großen Anzahl späteren Arbeiten wird ersichtlich, daß LiCl und CsCl von allen Salzen den stärksten Einfluß auf die Bakterienmorphologie ausüben. Das Auftreten von Riesenformen in überalterten Bakterienkulturen erwähnt schon Gamaleia (18) als länger bekannte Tatsache. Daß antiseptische Stoffe in kleinen Dosen Bakterien nicht abtöten, sondern zu eigenartigen Gestaltsveränderungen führen, hat schon E. Wasserzug 1888 vermutet (n. 40). Almquist beschreibt 1904 myceloidartiges Wachstum bei *S. typhi* unter erniedrigter Bebrütungstemperatur (2). Andere Autoren beobachteten Veränderungen unter erhöhter Züchtungstemperatur (47). Bei aerober Züchtung von Buttersäurebakterien ergeben sich ebenfalls Gestaltsänderungen (Graßberger 1904, n. 62). Den Einfluß von ultravioletttem Licht beschreibt Gates 1933 (20), denjenigen von alpha- und beta-Strahlen Lea und Mitarbeiter 1937 (35). Einen der frühesten Berichte über Riesenformen unter der Einwirkung antibiotischer Arzneimittel gibt Gardner 1940 (19), der Riesenformen bei Penicillineinwirkung beobachtete.

Schon seit den ersten Beschreibungen derartiger ovoider, kugeliger, spindel- oder spirillenförmiger Riesenformen gehen die Ansichten über die Deutung dieser Erscheinungen weit auseinander. Auffassungen im Sinne des Pleomorphismus oder -wegen der Fadenformen und Verzweigungen- der Verwandtschaft zu den Fadenpilzen, wurden bald widerlegt. Nägeli nennt die Gebilde Involutionsformen, Maaßen (40) spricht von teratologischen Formen. Gamaleia (18) hält nicht alle diese Gebilde für degenerativ. Er weist darauf hin, daß sie manchmal gerade beim Wuchsoptimum einer Kultur auftreten können. Er bezeichnet sie deshalb einfach als heteromorphe Formen.

B. BEDINGUNGEN, UNTER DENEN RIESENFORMEN ENTSTEHEN

Aus der großen Zahl der untersuchten Stoffe und beeinflussenden Faktoren soll eine Übersicht gegeben werden.

1. Riesenformen entstehen bevorzugt unter Mangelbedingungen. Ihr Auftreten in alten Bakterienkulturen wurde auf Stickstoffmangel, Änderungen des pH-Wertes oder das Vorhandensein toxischer Stoffwechselprodukte zurückgeführt (31). Beim Arbeiten mit synthetischen peptonfreien Nährmedien ist das Verhältnis Stickstoff : Kohlenstoff von Bedeutung (26). Braun und Mitarbeiter (7) erhielten auf einem festen Nährboden, der Ammoniumchlorid als einzige Stickstoffquelle und Natriumlaktat als einzige Kohlenstoffquelle enthielt, eine bessere Ausbeute an LiCl-Riesenformen. Bei Magnesium-Mangel erhielt Webb (77) bei Bazillen und Clostridien lange Filamente, die sich bei einer Erhöhung der Mg-Konzentration oder Überimpfung auf Normalnährböden wieder zur Normalform zurückbildeten. In frisch isolierten Kulturen sind öfter vereinzelt Fadenformen zu sehen. Diese verschwinden nach mehrmaliger Überimpfung, da dann alle Keime an den Nährboden "adaptiert" sind.
2. Mehrfach wurde auch Riesenformenentstehung nach Zusatz von Aminosäuren zum Nährmedium beobachtet (Übersicht bei 31). Grula (23) gelang es 1962, die bei einem Stamm der Gattung *Erwinia* durch d-Histidin und d-Phenylalanin bewirkte Teilungshemmung durch Zugabe zweiwertiger Ionen (Zn, Mn) oder durch Zusatz der l-Isomere der beiden Aminosäuren bei einem Teil der Bakterienzellen wieder rückgängig zu machen. Durch Pantoyl-Lakton ließen sich nahezu alle Riesenformen wieder zu normalen Zellteilungen anregen (23). Auch Komplement- oder Serumzusätze zum Nährboden bewirken morphologische Veränderungen (31). Besonders zur Züchtung von L-Formen im Experiment werden Serumzusätze angewandt. In vivo ist ein Zusammenwirken der Abwehr des Organismus mit der Wirkung des Chemotherapeutikums gegeben. Dabei kommt möglicherweise dem Protoplastenstadium der Bakterien eine besondere Bedeutung zu (76). O'Connor (52) gelang es nicht vollständig, die bei seinen in-vivo Versuchen an Mäusen mit Furadantin entstehenden Protoplasten-Formen auch in vitro hervorzurufen.
3. Die Wirkung anorganischer Salze auf das Bakterienwachstum und die entstehenden Wuchsformen sind sehr eingehend untersucht worden. Sander (62), der systematische Untersuchungen an gramnegativen Keimen durchführte, hebt Cr als Chromat, Fe im Natriumnitoprussid, das sekundäre Kaliumphosphat und Natriummetaphosphat als besonders anormomorphogenetisch wirksam hervor. Es entstehen unter der Einwirkung der oben genannten

Salze konzentrationsabhängig ovoide bis polyedrische oder Schlangen- und zwiebelspindelähnliche Formen. Heinzel (26) erhielt bei *B. prodigiosum* durch Salzzugaben zum Nährboden lange Ketten- und Fadenformen. Die stärkste formbeeinflussende Wirkung zeigten Lithium und Caesium, die daher auch die meiste Beachtung fanden (Gamaleia (18), Sander (62), Klieneberger (33), Maaßen (40), Braun und Mitarbeiter (7), Stehr (68), Metz (45)). Gramnegative Keime wandelten sich unter LiCl von der Stäbchen- zur Kugelform bis zu 8-10 μ Durchmesser. Diese besaßen in Ruhe und Reifungsphase nur ein Chromatinkorn. Pitzurra und Szibalski (54) beobachteten unter einem 2,5 %igen LiCl-Nährbodenzusatz bei *E. coli* kugelige Formen, die osmotisch stabiler waren, als die unter Penicillin entstandenen Protoplasten. Sie schlugen dafür die Bezeichnung Sphaeroblast vor.

CsCl wirkt stärker vermehrungsbehindernd als LiCl. Es entstehen daher lange faden- und spindelförmige Riesenformen mit zahlreichen Chromatinkörnchen. Es ließ sich zeigen, daß die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit sowohl der kugeligen als auch der Fadenformen keine Minderung erfährt (7).

4. Zur Gruppe der formverändernden Substanzen können auch die meisten Desinfektionsmittel gerechnet werden, wenn sie in Konzentrationen vorhanden sind, die nicht ein sofortiges Absterben der Bakterien bzw. die sofortige Zerstörung der Bakterienzelle bewirken (21). Unter Phenol (Grieder (21)), Zephirol und Sagrotan (Meyer-Rohn (44)) entstehen Fadenformen mit Ausstülpungen und verdickte Stäbchen. Das Erscheinungsbild ist bei den verschiedenen Mitteln nicht ganz gleich. Seit längerem bekannt sind auch Riesenformen, die unter der Einwirkung von Sulfonamiden herangewachsen sind (21, 44). Neben Fadenformen und stäbchenförmigen Bakterien mit kolbigen oder spindeligen Auftreibungen zeigen sich hier wolkige Trübungen im Protoplasma. Überaus zahlreich sind die Arbeiten über den Einfluß der Antibiotika auf die Bakterienmorphologie. Eine starke Verlängerung der einzelnen Keime fand schon Gardner 1940 (19), als er auf *Clostridium welchii*, *E. coli*, *Salmonella typhi* und andere Arten Penicillin einwirken ließ. Daneben sind für das Penicillin spindelige Auftreibungen des Bakterienleibes, evtl. spätere Lysis charakteristisch (56).

Besonderes Interesse fand der mit Hilfe von Penicillin auslösbare L-Zyklus, der auch phasenoptisch festgehalten wurde (4, 29, 30). Bei Streptomycin stellt sich bei *E. coli* nur anfänglich verstärktes Wachstum ein, später verfallen die Bakterien der Lysis (21, 37).

Den Einfluß von Tetracyclin und Chloramphenicol auf *E. coli* und *Salmonellen* hat Stehr (69) mit derselben Versuchstechnik, die auch in der vorliegenden Arbeit angewandt wurde, beschrieben.

Bei tetracyclinhaltigem Nährboden entstanden keine Blähformen wie unter Penicillin, sondern lange Fadenelemente herrschten vor. Das Optimum der Tetracyclinkonzentration lag zwischen 2,5 - 5 mcg/ml Nährboden. Die Tetracyclinformen sind plumper und deutlich kürzer als die unter Penicillin gewachsenen. Die durchschnittliche Länge betrug 40μ , bei einer Breite von etwa 1μ und einer größten Länge von 100μ .

Unter dem Einfluß von Chloramphenicol war die Neigung der Enteritiscoli und Salmonellen zur Fadenbildung noch geringer. Bei einer Konzentration von 1,5 - 2,5 mcg/ml entwickelten sich auf festen Nährboden plumpe zigarrenförmige Gebilde, die teilweise bumerangartig gekrümmt waren. Diese für Chloramphenicol typischen Riesenformen zeigten sehr unterschiedliche Längen. Sie erreichten die unter Penicillin und Tetracyclin auftretenden Längenmaße aber bei weitem nicht. Die Durchschnittslänge betrug 17μ , die Maximallänge bis 25μ , bei einem Breitenmittelwert von $1,2\mu$.

5. Riesenformen durch physikalische Einwirkungen

a) Um die Wirkungsweise verschiedener Strahlenarten auf die Bakterien näher zu erforschen, wurden in den letzten Jahren zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, die auch in bezug auf die Riesenformenentstehung von Interesse sind.

So fanden Payne und Mitarbeiter (53) folgendes: Während bei normal empfindlichen Colibakterien unter subletalen UV-Dosen lange Filamente und Schlangenformen entstehen, waren diese bei einem mit gleicher Dosis bestrahlten UV-resistenten Stamm erheblich kürzer. Ein mitbestrahlter, gegen Furazin (eine dem Furadantin nahe verwandte Substanz aus der Gruppe der Nitrofurane) resistenter Colistamm zeigte nun ebenfalls eine geringere Verlängerung des Bakterienleibes, als der sensible Stamm. Wurden nun der empfindliche, der UV-resistente und der gegen Furazin resistente Stamm unter einer subletalen Furazinkonzentration geprüft, so ergab sich ein entsprechendes Resultat: Der UV-resistente Stamm zeigte sich auch gegen das Furazin widerstandsfähig (53).

Mc Calla selektionierte denselben Colistamm gegen UV-Licht und die beiden Nitrofurane Nitrofurazon (Furacin^R) und NFT (= 3-Amino-6-(2-(5-nitro-2-furfuryl)-vinyl)-1,2,4,-triazin, das bei E.coli als Inhibitor der DNS-Synthese wirkt). Hierbei erwiesen sich die nur gegen eine Noxe ausgelesenen Mutanten auch gegen die beiden anderen als resistent (43). Außerdem ließen sich Mutanten finden, die auch gegen die beiden Nitrofurane Furazolidon (Furoxon^R) und Nitrofurantoin (Furadantin^R), die beide Schiff'sche Basen sind, Kreuzresistenz zeigten. Mit Nifuroxim, das eine andere chemische Konstitution als die obengenannten Nitrofurane besitzt, bestand keine Kreuzresistenz.

UV-Dosen, die beträchtlich niedriger sind, als solche, die notwendig sind, um das Wachstum einer Kultur völlig zu unterbinden, bewirken eine Behinderung der Zellteilung. Diese führt bei *E. coli* zu Langformen von normaler Dicke. Deering (14) bestrahlte *Coli*-Suspensionen und stellte dabei fest, daß die Massenzunahme d.h. also die Wachstumsrate bei bestrahlten und unbestrahlten Proben gleich blieb. Auch die Anzahl der unverändert aussehenden Keime nahm nach der Bestrahlung weiter zu, die Zahl der Riesenformen blieb aber im Durchschnitt gleich. Bei diesem Versuch wurde also bei einem Teil der Zellen die Zellteilung unterbunden, ohne deren Wachstum merklich zu beeinträchtigen. Mit steigender Strahlendosis nimmt die Zahl der morphologisch unveränderten Keime ab. Wird mit einer so hohen Dosis bestrahlt, daß sich praktisch alle Keime verändern und Filamente bilden, so fand Deering (14), daß der Gehalt an RNS und an DNS der Gesamtmasse aller Zellen proportional war. Eine Einzelzelle enthielt also eine größere Nukleinsäuremenge als eine Zelle der Ausgangskultur, entsprechend ihrer größeren Länge. Andere Autoren erhielten aber hier z.T. abweichende Ergebnisse (14). Durch Bestimmung der Absorptionsmaxima, die für RNS, DNS und die bestrahlten Bakterien bei nahezu derselben Wellenlänge lagen, ergab sich die Vermutung, daß das UV-Licht im Bakterium vor allem von den Nukleinsäuren absorbiert wird. Durch die verschiedenen Reaktivierungseffekte ließ sich aber zeigen, daß für die Wirkung des UV-Lichtes sekundäre Vorgänge nach der Bestrahlung von sehr großer Bedeutung sein müssen (70).

Die Riesenformenbildung nach UV-Bestrahlung bei subletaler Dosierung ist reversibel. Auf frischen Nährböden werden wieder Zellen normaler Größe ausgebildet. Die Riesenformen zeigen eine regelmäßige Verteilung des Kernmaterials, Zwischenwände waren nicht feststellbar. Auch durch Ultraschallbehandlung gelang es nicht, die Riesenformen in lebensfähige Unter-einheiten zu zerlegen.

Lea und Mitarbeiter (35) haben sehr ähnliche Gestaltsänderungen bei Bakterien unter Röntgenbestrahlung und unter radioaktiver Strahlung beschrieben. Bei *E. coli* fanden Spoerl et. al. (65), daß bei subletaler Strahlendosierung das Wachstum (bestimmt am Gesamtrockengewicht der Bakterien) nicht beeinflusst wurde. Bis zu einer bestimmten Strahlendosis (ca. 8000 r) nahm dagegen die durchschnittliche Zellgröße aufs vierfache zu. Bei weiterer Dosiserhöhung gingen dann aber beide Werte als Zeichen des Absterbens in der Kultur zurück. Dieselben Autoren berichten auch über ihre Arbeiten mit alpha-Strahlen, die vergleichbare Ergebnisse brachten.

b) erhöhte Züchtungstemperatur

Der Einfluß erhöhter Temperatur, der schon seit langem bekannt ist, wurde

in neuerer Zeit an *E. coli* von Hoffmann und Frank (28) sowie bei *Clostridium aceturici* von Terry, Gaffar und Sagers (72) genauer untersucht. Letztere fanden bei einer Temperatur von 43 Grad C eine Neigung der Bakterien zur Riesenformenbildung, bei 44 Grad entstanden bereits Riesenformen beträchtlicher Länge (72). Bei dieser Temperatur war nur selten eine Zwischenwand innerhalb der Riesenformen zu sehen. Bei Senkung der Temperatur trat aber nach kurzer Zeit Zwischenwandbildung ein, und die langen Riesenformen zerfielen in kurze Einzelzellen. Das Chromatinmaterial war gleichmäßig über die Filamentlänge verteilt. Die bei 37 Grad wachsenden Zellen von *Cl. aceturici* sind grampositiv, die bei 44 Grad entstehenden Formen verhalten sich gramnegativ. Wegen der Reversibilität nehmen die Autoren eher eine Hemmung des die Zwischenwandbildung steuernden Enzymsystems als einen Eingriff am Kernmaterial als Ursache an.

Nach Hoffmann und Frank (28) ließ sich bei *E. coli* die Anzahl, die Länge, und auch die Zeitdauer bis zum Auftreten der Riesenformen merklich durch eine Erhöhung der Züchtungstemperatur über 40 Grad C beeinflussen.

Bei 44 Grad hört allerdings jedes Wachstum nach 1 1/2 Stunden auf, bei 44,5 Grad tritt schon nach einigen Minuten Wachstumsstillstand ein. Durch vergleichende Untersuchungen konnten die Autoren zeigen, daß das von einer Zelle ausgehende Längenwachstum, bei Zellen, die zu Riesenformen heranwachsen, in seiner Gesamtsumme genau so groß ist, wenn sich die Zelle stattdessen geteilt haben würde.

c) Morphologisches Verhalten unter hohem Druck

Zobell und Cobet (85) untersuchten das Verhalten von *E. coli* unter Druckverhältnissen, denen normalerweise nur die Organismen der Tiefsee ausgesetzt sind. Bis etwa 200 atü waren überhaupt keine meßbaren Effekte feststellbar. Bei ca. 500 atü setzte dann ein Absterben der Kultur ein, deren Geschwindigkeit aber auch von den übrigen Kulturbedingungen (z.B. der Temperatur) abhängig war. Mit steigendem Druck verringert sich das Wachstumstempo und verlängert sich die lag-Phase. In gleicher Abhängigkeit verändert sich das morphologische Bild: Mit steigendem Druck werden fadenförmige Riesenformen zahlreicher und erreichen größere Längen. Interessant ist, daß bei einem gegen UV-Strahlung resistenten Colistamm diese Wirkung deutlich geringer ausgeprägt war.

Kurze Zeit nach der Dekompression unterteilten sich die Riesenformen unter Ausbildung von Zwischenwänden in kürzere Einheiten. Bei den unter Druck entstandenen Riesenformen waren dagegen auch elektronen-

optisch keine Zwischenwände festgestellt worden. Überdies konnten die Autoren zeigen, daß diese Unterteilung nach der Dekompression fast nicht mit echtem Längenwachstum einhergeht.

Der Proteinanteil am Bakterientrockengewicht war bei allen Drucken gleich. Während aber der RNS-Gehalt mit steigender Zelllänge zunimmt, blieb der DNS-Anteil pro Bakterium bei normalen Zellen und Riesenformen fast gleich. Entsprechend fand sich mit der Feulgen'schen Reaktion Kernmaterial fast nur an den Enden der Riesenformen, während der übrige Bakterienleib sich kaum anfärben ließ.

Da eine hohem Überdruck ausgesetzte Kultur etwa 3 Stunden nach Dekompression schon wieder ein völlig normales Bild zeigt, glauben die Autoren, daß es sich auch hier um eine phänotypisch bedingte Veränderung handelt. Sie vermuteten, daß durch die Druckeinwirkung eine Vervielfältigung der DNS unterbleibt.

7. Anormomorphogenetische Wirkung bei neueren cytotatischen und antibiotischen Stoffen

In den letzten Jahren wurde der Einfluß einer ganzen Reihe von hochwirksamen chemischen Stoffen, insbesondere von cytotatischen und neueren antibiotischen Substanzen auf das Bakterienwachstum untersucht. Soweit auch hier Riesen- oder Fadenformen auftraten, sollen sie hier erwähnt werden. Loveless und Mitarbeiter (39) untersuchten an Schimmelpilzen und *E. coli* eine große Anzahl chemischer Verbindungen auf ihre wachstumshemmende und besonders auf ihre teilungshemmende Wirkung. Sie fanden für *E. coli* eine Reihe von Chemikalien, die die Teilung unterbinden. Hierunter sind Äthylenimin, Akriflavin, Diäthylsulfat und beta-Propiolakton, Triäthylenmelamin u. a. Es handelt sich also um sehr reaktionsfreudige Stoffe, die in Lösungen freie Radikale bilden können. Deshalb dürfte ihre Wirkung der des UV-Lichtes ähnlich sein (39). Bei *E. coli* wird nur die Teilung, nicht aber das Wachstum gehemmt. Curry und Greenberg (12) berichten, daß nach Einwirkung von Azaserin, das als Antimetabolit der Purinsynthese wirksam ist (80), und Mitomycin C (für das eine Hemmung der DNS-Synthese beschrieben worden ist (16)) bei *E. coli* Riesenformen entstehen. Grula und Grula (23) konnten einen Teil der durch d-Histidin oder d-Phenylalanin hervorgerufenen Riesenformen durch Zugabe der l-Isomere der beiden Aminosäuren zum Nährmedium wieder zu Zellteilungen anregen. Bei Zusatz von Pantoyl-lakton oder Methyl-pantoyl-lakton war die Riesenformenbildung völlig reversibel. Auch durch UV-Licht induzierte Fadenformen (23) von *E. coli* zeigten ebenso wie der von Adler und Hardigree (1) zu ihren Untersuchungen verwendete Colistamm ein Wiedereinsetzen der Zellteilung nach Zugabe von Pantoyl-lakton. Wurden die heranwachsenden Filamente mit Mitomycin C behandelt,

so zeigten phasenoptische Untersuchungen, daß sich das vorher über die ganze Länge verteilte Kernmaterial jetzt in einem zentralen Bezirk befand (1). Durch Zugabe des Laktons war nun ein Wiedereinsetzen der Zellteilungen nicht zu erreichen, Folglich muß zur Zellteilung ein Zusammenwirken zwischen Längenwachstum sowie Teilung und Synthese des Kernmaterials notwendig sein (1).

Zamenhof und de Giovanni (81) konnten durch den Einbau halogenierter Urazile als falscher Basenanaloger in die Nukleinsäure unter bestimmten Versuchsbedingungen filamentartige Zellen erhalten, die dann relativ ärmer an DNS waren. Die Fadenformenbildung war hier besonders bei zusätzlichem Thyminmangel deutlicher ausgeprägt. Zampieri und Greenberg erhielten Filamente auch durch 2-Aminopurin als Basenanalogon (83). Auch eine Anzahl auf Gewebszellen cytostatisch bzw. als Antimetaboliten wirksame Stoffe sind geprüft worden. Nickerson und Webb (50) erhielten bei *E. coli* durch Aminopterin und andere Folsäureantagonisten lange Filamente. Diese Wirkung konnten sie nicht durch Folsäure, wohl aber durch Thyminzugabe unterdrücken. Der DNS-Gehalt der Filamente war erniedrigt.

Dagegen führen Stoffe vom Typ des Colchizins bei Bakterien nicht zu einer Hemmung der Zellteilung. Knöll und Zapf (34) beobachteten lediglich das Entstehen dunkler Polkappen bei den mit Colchicin behandelten Zellen.

Beirah und Konetzka (5) konnten durch Phenethyl-Alkohol bei einer Reihe von gramnegativen Keimen und bei Mykobakterien die Entstehung langer fadenartiger Formen auslösen. RNS- und Proteinsynthese hielten hierbei etwa mit der Längenzunahme Schritt, die DNS-Synthese wurde herabgesetzt. Nach Eliminierung des Phenethylalkohols ist diese Wirkung reversibel, auch teilen sich die Zellen in gewohnter Weise weiter. Nicht alle Ergebnisse weisen in die gleiche Richtung. Rippel-Baldes und Busch (61), die durch Salze und erhöhte Bebrütungstemperatur kugelige und spindelige "Involutionsformen" erzeugt hatten, untersuchten diese auf ihre chemische Zusammensetzung. Sie fanden zwar eine Abnahme der Nukleinsäuregesamtmenge, dagegen bestand hier eine leichte Zunahme des DNS-Anteils. Dennoch lassen die angeführten Versuchsergebnisse insgesamt den Schluß zu, daß zwischen DNS der Bakterienzelle und der Steuerung der Zellteilung - mithin also auch der Riesenformenbildung - engere Zusammenhänge bestehen müssen.

8. Zur Wirkung der Nitrofurane

Neben den schon seit 20 Jahren bekannten antibakteriellen Eigenschaften sind die Nitrofurane auch in anderer Hinsicht von Interesse. Es wurde eine

Gruppe von Substanzen gefunden, zu denen auch das Nitrofurazon (Furazin^R) gehört, das ebenso wie das Nitrofurantoin (Furadantin^R) eine Schiff'sche Base des 5-Nitrofuraldehyds ist. Diese Stoffe lösen ebenfalls die Bildung von Fadenformen aus und wirken fast alle im Experiment auf Bakterien mutagen. Es besteht untereinander und gegen UV-Licht Kreuzresistenz (79). Deshalb wurde nach einem gemeinsamen Angriffspunkt gesucht, der in der DNS der Bakterien vermutet wurde. Für das Mitomycin C und die alkylierend wirkenden Stoffe dieser Gruppe ergab sich auch ein Eingriff in die DNS-Synthese. Die übrigen radiomimetischen Substanzen zeigen dagegen eine gleichmäßige Herabsetzung des DNS-, RNS- und des Proteingehaltes der damit behandelten Zellen (71, 42). Zu dieser Untergruppe gehört nun auch das Nitrofurazon. Auch Nitrofurantoin setzt DNS-, RNS- und Proteinsynthese gleichmäßig herab, d.h. also ein selektiver Angriffspunkt ist hier nicht zu erkennen.

Es gelang aber, ein Nitrofuranderivat (das NFT) darzustellen, das stärker als die Schiff'schen Basen mutagen und bakterizid wirkt und die DNS-Synthese bei Bakterien deutlich stärker als die Proteinsynthese hemmt (42). Mc Calla (42) diskutiert, ob dieser Wirkungsunterschied zu den erstgenannten Nitrofuranen darauf beruhen könnte, daß bei ihnen die zur Erzielung eines gleichen antibakteriellen Effektes notwendigen Dosen um ein Mehrfaches höher sind. Das könnte zu einer entsprechend starken Enzymhemmung im Kohlehydratstoffwechsel führen, die einen entsprechend starken Energiemangel in der Zelle zur Folge hat. Hiervon sind dann aber DNS-, RNS- und Proteinsynthese in gleichem Maße betroffen.

Umgekehrt läßt sich also sagen, daß die Riesenformenentstehung unter Furadantin nicht eine selektive Hemmung der DNS der Bakterienzelle zur Voraussetzung hat.

9. Morphologische Veränderungen der Bakterien unter der Einwirkung von Nitrofuranen (Bisherige Beobachtungen).

Haschek (24) versuchte 1961 biologische und morphologische Veränderungen bei Harnwegserregern nachzuweisen. Er isolierte Keime von Patienten, die über lange Zeit mit Furadantin behandelt worden waren. Die Kulturen zeigten oft kümmerliches Wachstum und uncharakteristisches Aussehen. Die Anzüchtung gelang nur unter Schwierigkeiten, die Keimdifferenzierung erst nach mehreren Passagen. Bei der Prüfung in der bunten Reihe ergaben sich deutliche Unterschiede zu unbehandelten Bakterien. Im mikroskopischen Präparat zeigten sich Riesenformen mit Keulenbildungen.

O' Connor und Mitarbeiter (52) untersuchten mit der Methode des Reihenverdünnungstestes die Wirkung von Furazolidon (Furoxon^R) auf *S. typhi*. Bei 1-4 mcg/ml entwickelten sich Fadenformen. Bei einer Konzentration von

2 mcg/ml zeigten sie sich nach zweistündiger Bebrütung. Nach weiteren 3 Stunden bildeten sich wieder Zwischenwände und die Riesenformen teilen sich nach dem Zerfall in normalgroße Zellen in der gewöhnlichen Weise weiter. Nach 4 Stunden waren im Präparat normal lange Zellen zu sehen. Bei höheren Konzentrationen zeigte sich bei den meisten Keimen keine Fadenformenbildung, sondern die Bakterien werden abgetötet. Nach zwei Stunden ist im mikroskopischen Bild aber noch kein Unterschied gegenüber der Ausgangskultur festzustellen. Zellzählungen ergeben aber das Vorhandensein nicht mehr lebender Bakterien. Nach vierstündiger Bebrütung erscheinen sogenannte ghost-Zellen, ein sicheres Zeichen des Absterbens der Kultur. Erhöht man bei gleichbleibender, bakterizider Konzentration die Einsaat an Bakterien, so können eine Anzahl von Keimen überleben. Diese durchlaufen dann das Stadium der Fadenbildung. O' Connor (52) erhielt nahezu dasselbe Ergebnis, als der Altafur^R in der gleichen Versuchsanordnung auf *S. aureus* einwirken ließ. Er führte auch in-vivo Versuche an Mäusen durch. Diesen wurden die Bakterien intraperitoneal appliziert, oder es wurden Bakterien in Zellophansäckchen gebracht, die den Versuchstieren unter die Bauchhaut implantiert wurden.

Bei unbehandelten Kontrolltieren zeigten sich mikroskopisch keine Veränderungen der Keime. Fadenformen wurden nur bei Tieren gefunden, die mit tödlichen Bakterienmengen infiziert und gleichzeitig mit unzureichenden Medikationen behandelt waren.

Bei hoher Furoxondosierung waren im Peritonealexsudat überhaupt keine stäbchenförmigen Bakterien zu finden, sondern nur Protoplasten. Dieses Protoplastenstadium auch in vitro zu reproduzieren, gelang O' Connor (52) aber nur teilweise und unter Zuhilfenahme von Lysozym.

Zusammenfassung

Es erhebt sich natürlich die Frage, ob sich aus der durch einen Stoff oder einer physikalischen Einwirkung bei einem Bakterium entstandenen Gestaltsänderung Schlüsse auf den Wirkungsmechanismus oder den Wirkungsort ziehen lassen. Das ist zunächst nur soweit möglich, als hierbei morphologisch bestimmende Strukturen direkt verändert wurden. So hat z.B. die bei Protoplasten stark veränderte Zellwand zur Aufklärung des Wirkungsortes des Penicillins beigetragen (16, 17). Für andere Antibiotikagruppen, die etwa die Proteinsynthese oder die Nukleinsäuresynthese beeinflussen, ist ein sol-

cher Zusammenhang nicht ohne weiteres abzuleiten. Auch bei der überwiegenden Anzahl der oben angeführten weiteren Noxen ist eine solche Erklärung heute noch nicht möglich.

Es ist dabei weiter zu beachten, daß das entstehende Formenbild nicht nur von der Bakterienart und dem jeweiligen formbeeinflussenden Agens allein abhängen. Der Nährboden und die übrigen Züchtungsbedingungen beeinflussen das Bild zusätzlich. Wie gezeigt wurde, können sie unter Umständen ja allein verantwortlich für das entstehende morphologische Bild sein. So kann auch der Vergleich zwischen den Ergebnissen verschiedener Arbeiten erschwert werden, wenn sie unter abweichenden Versuchsbedingungen durchgeführt wurden. Daß die Riesenformen nicht einfach als Involutionsformen zu gelten haben, wurde von verschiedenen Autoren gezeigt. Schon Gamaleia (18) betont die Lebensfähigkeit eines Teils dieser Formen. Hirsch (27) beschrieb nach Penicillinzugabe zur Kultur einen kurzfristigen Anstieg des Sauerstoffverbrauches, entsprechend dem Heranwachsen der Riesenformen. Braun und Mitarbeiter (7) zeigten an Einzelzellkulturen die Lebenstüchtigkeit der CsCl- und LiCl-Riesenformen. Kulturen, die physikalischen und anderen Noxen ausgesetzt worden waren, vermochten in ihrer Morphologie häufig zur Normalform zurückzukehren. Rippel-Baldes und Busch fanden, daß ihre "Involutionsformen" in ihrer Aminosäurezusammensetzung einem physiologisch jungen Stadium entsprächen, da auch dort ebenso wie in den von ihnen untersuchten Bakterienformen der Gehalt an Glutaminsäure und zyklischen Aminosäuren stärker hervortritt.

Die Entstehungsweise der Riesenformen ist verschieden gedeutet worden. Bei den Salzen lag es nahe, die Rolle des osmotischen Druckes besonders für die mehr kugeligen Formen zu untersuchen (7). Klieneberger (33) zeigte aber, daß diese nicht einfach durch Wasseraufnahme entstehen können. Bei vermehrtem Salzgehalt im Züchtungsmedium müßten ja sonst die Formen kleiner werden, statt anzuschwellen! Erhöhung des Sauerstoffverbrauches (27) und Zunahme des Trockengewichtes (39) beweisen, daß echtes Wachstum stattfindet.

Die bisherigen Deutungen sehen in den Riesenformen entweder Adaptationsformen oder Dauermodifikationen. Andere sehen sie als Ausdruck eines Lebenszyklus der Bakterien an. Schließlich wird diskutiert, ob es sich um durch Mutation oder Selektion entstandene Gebilde handelt. Hierbei wäre es denkbar, daß es sich um eine in der Population befindliche und nur ausgelesene Spontanmutation handelt oder aber daß die Mutation durch die einwirkende Schädigung erst hervorgerufen wird (80).

Mutagene Wirksamkeit ist für Strahlen und eine Reihe von Chemikalien beschrieben worden. Zampieri und Greenberg (82) gelang es, für Furazin im Experiment mit *E. coli* eine mutagene Wirksamkeit nachzuweisen.

Die nach vielen Schädigungen eintretende Rückkehr zur gewohnten Bakterienform läßt aber erkennen, daß hier genotypische Veränderungen nicht erfolgt sind.

Wir müssen daher in diesen morphologisch abweichenden Formen Reaktionsformen der Bakterien sehen, die bei ungünstigen Lebensbedingungen gebildet werden. Vielzahl und Verschiedenheit der Schädigungen, die morphologische Veränderungen zur Folge haben, lassen einen gemeinsamen Angriffspunkt in der Zelle nicht als wahrscheinlich erscheinen.

Es läßt sich feststellen, daß die Zahl der auftretenden Riesenformen bei Einwirkung antibiotischer Stoffe dicht unterhalb der Hemmkonzentration am größten ist. Auch bei Strahleneinwirkung steigen Länge und Anzahl der Fadenformen bis zu einem Grenzwert der Strahlendosis, bei dessen Überschreitung ein Absterben der Zellen einsetzt. Bei erhöhter Temperatur und ebenso unter hohem Überdruck entstehen die ausgeprägtesten Formveränderungen dicht unterhalb der Wachstumsgrenze.

Riesenformen entstehen also bei subletaler Schädigung (69). Das heißt, es darf kein Zustand hervorgerufen werden, der den Bakterien praktisch jede Reaktionsmöglichkeit nimmt (21). Die funktionellen Entwicklungsabläufe dürfen nur soweit gestört sein, daß noch gewisse, wenn auch außergewöhnliche Lebensäußerungen möglich sind.

Für die Entstehung der fadenförmigen Riesenzellen nehmen die meisten Autoren eine Unterdrückung oder zumindest Hemmung des Teilungsmechanismus an. Dies wurde auch für die unter dem Einfluß von Nitrofuranen entstehenden Formen vermutet (52).

Viele der oben angeführten Autoren fanden bei ihren Riesenformen keine Zwischenwände (28, 46, 50, 72). Trotzdem waren häufiger Einschnürungen zu sehen (28, 46), denen dann aber keine Teilung folgte. Aufgrund der Verteilung des Kernmaterials vermuteten Munson und Maclean (46), daß in ihren Versuchen erst die Schlußphase der Teilung gehemmt würde.

Das Wachstum der Zelle bzw. der Zellwand geht nach Bisset (6) von einem Bezirk zwischen der Zellwand und der Querwand aus. Diese Stelle bezeichnet er als "growing points".

Durch Zellzählungen und Ermittlung der Zellmasse lassen sich im Versuch wachstumshemmende und teilungshemmende Wirkung einer einwirkenden Schädigung getrennt voneinander erfassen. Es lassen sich Substanzen und Versuchsbedingungen finden, unter denen nahezu selektiv die Zellteilung gehemmt wird, das Wachstum aber nicht beeinträchtigt wird. Es entstanden dann ebenfalls Fadenformen (39, 67).

Dies stützt die Annahme, daß die Schlangen- oder Fadenformen durch eine Beeinträchtigung des Querteilungsmechanismus hervorgerufen werden.

II. DAS FURADANTIN

1. Über Nitrofurane (Allgemeines)

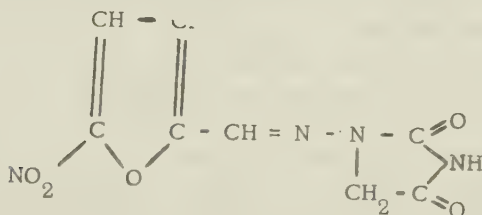
Die antibakterielle Wirksamkeit von Derivaten des Furaldehyds, die in Stellung 5 eine Nitrogruppe tragen (4-Nitrofurane sind antibakteriell unwirksam (78)) wurde 1944 in den USA von Dodd und Stillmann und im gleichen Jahr in Deutschland von Dann und Möller (13) entdeckt. Seitdem ist eine große Zahl solcher Derivate dargestellt worden, unter denen sich Stoffe mit antibakterieller, tuberkulostatischer, antiprotozoischer und antihelminthischer Wirksamkeit befanden (32). Sogar antihypertensive und antineoplastische Wirkungen von Nitrofuranen sind beobachtet worden (41).

Die Wirksamkeit der Nitrofurane beruht auf der Reduktion der Nitrogruppe in Stellung 5. Sie erfolgt im Modellversuch bei schwach saurem pH-Wert über die Oxyamino- zur Aminogruppe. Die Oxyaminostufe soll dabei die eigentlich wirksame Zwischenstufe darstellen (78).

Durch den Substituenten in Stellung 2 des Furanringes werden Wasser- und Lipoidlöslichkeit, Reduzierbarkeit, Adsorption an dem Keim und andere Eigenschaften wesentlich beeinflusst. Die Einführung einer konjugierten Doppelbindung zwischen Seitenkette und Furanring ergab besonders wirksame Derivate. Im letzten Kriegsjahr kam als erstes Nitrofuran das Furazin^R (Nitrofurazon) in Form von Wundpuder auf den Markt. Diesem folgten Furoxon (Furazolidon) und Furadantin^R (Nitrofurantoin). Wirkungsmechanismus und antibakterielles Spektrum der drei Medikamente sind recht ähnlich: Sie sind wirksam gegen die meisten grampositiven und gramnegativen Keime sowie Trichomonaden, ausgenommen *Ps. pyocyanea* und ein Teil der Stämme von *B. proteus* (32). Sie unterscheiden sich deutlich in ihren physikalischen und pharmakodynamischen Eigenschaften. Furadantin^R wird seit 1952 von der Fa. Eaton Lab., Norwich/USA hergestellt. Es wurde zuerst von Norfleet (49) erprobt und ab 1953 in die Therapie eingeführt. Seit 1955 wird es auch in Deutschland verwendet.

2. Nitrofurantoin (Furadantin^R) (Eigenschaften)

Nitrofurantoin ist die Schiff'sche Base des 5-Nitrofuraldehyds mit Aminohydantoin, mithin N-(5-Nitro-2-Furfuryliden)-1-Aminohydantoin. Die Summenformel beträgt $C_8H_6N_4O_5$. Die Strukturformel lautet:



Das Molekulargewicht beträgt 238,16. Der Schmelzpunkt liegt bei etwa 250 Grad Celsius. Es ist eine hellgelbe, in dünnen prismatischen Nadeln kristallisierende Substanz von bitterem Geschmack. Unter Einwirkung von Licht und Alkalien dunkelt es nach. Entsprechend dem chemischen Aufbau verhält es sich wie eine schwache Säure.

Die Resorption nach oraler Verabreichung ist nahezu vollständig und erfolgt sehr rasch. Im Blut wird es zu 30 % in nicht ionisierter Form an Plasma-eiweißkörper gebunden (58).

Im Liquor und im Blut werden kaum therapeutisch wirksame Spiegel erreicht. Die Gewebkonzentrationen sind ebenfalls sehr niedrig. Im Tierversuch lassen sich antibakteriell wirksame Konzentrationen im Interstitium der Niere erzeugen. In den peritubulären Kapillaren wurden beim Menschen Konzentrationen von 4 mcg/ml gefunden (22).

Nur 4 % werden mit dem Stuhl, im Urin dagegen 40-50 % unverändert und der Rest als nicht näher bekannte Abbauprodukte ausgeschieden (49, 60). Die Ausscheidung erfolgt sehr rasch, die Halbwertszeit beträgt nur rund 20 Minuten (58). Es können Harnspiegel von über 200 mcg/ml erreicht werden (58). Kumulation tritt bei intakter Nierenfunktion nicht auf. Für die Höhe des Harnspiegels ist neben der Dosis und Applikationsweise auch das Harnvolumen von Bedeutung.

3. Antibakterielle Wirkungsweise

Nitrofurantoin ist gegen grampositive und gramnegative Bakterien, ferner auch gegen Protozoen wie *Trichomonas vaginalis* wirksam. Pilze, Viren, Rickettsien, anaerobe Sporenbildner sowie Tuberkelbakterien werden nicht beeinflusst (32). *Ps. pyocyanea* wird durch die therapeutisch erreichbaren Spiegel in den allermeisten Fällen nicht gehemmt (15, 64). Bei einem Anteil zwischen 26 % (15) und 37 % (64) der Infektionen mit *B. proteus* ergab sich gleichfalls keine Empfindlichkeit gegen Furadantin.

Es wurde vermutet, daß die Wirkungslosigkeit gegenüber *Ps. pyocyanea* darauf beruht, daß in dem von *Pyocyaneus* bevorzugten alkalischen Milieu Nitroverbindungen im chemischen Modellversuch zu Azoverbindungen reduziert werden (78). Demgegenüber erfolgt hier im schwach sauren Bereich eine Reduktion zur Aminogruppe. Bezüglich der Wirksamkeit gegenüber *Proteus* wird außerdem darauf verwiesen, daß dieser Keim durch Harnstoffspaltung den Urin alkalisiert. Dadurch wird zwar die tubuläre Rückresorption des Medikamentes herabgesetzt (so daß der Harnspiegel höher bleibt) aber auch gleichzeitig die Wirksamkeit des Furadantins vermindert.

Die antibakterielle Wirkungsweise der Nitrofurane hängt vom nitrifizierten Furanring ab, ist also bei allen chemisch entsprechend aufgebauten Derivaten im Prinzip gleich.

Asnis und Gots (3) stellten fest, daß Furazin^R (Nitrofurazon) auch in hohen Konzentrationen keine Wirkung auf die folgenden Fermente bei Bakterien zeigt: Protease bei *B. subtilis*, Esterase bei *St. aureus*, Transaminase und Tyrosindecaboxylase von *Str. faecalis*, Katalase und Arginindecaboxylase von *E. coli* ferner Cytochromoxydase bei *Saccharomyces cerevisiae*.

Cramer und Dodd (11), die gefunden hatten, daß Furazin durch die Tätigkeit von Bakterien reduziert werden kann - wobei es als H^+ -Akzeptor dient - vermuteten einen Eingriff in das wasserstoffübertragende System des bakteriellen Stoffwechsels. Bei ruhenden Zellen von *E. coli* und *St. aureus* konnten Asnis und Gots nach Einwirkung von Furazin^R eine starke Herabsetzung der Aktivität der Dehydrogenasen im Kohlenhydratstoffwechsel dieser Bakterien nachweisen. Die Wirkung beruht also auf einer Unterbindung des Wasserstoffionentransportes, die zu einer starken Verminderung der freiwerdenden Energiemengen führt. Dieser Effekt ist schon mit relativ kleinen Konzentrationen erreichbar (58).

Nitrofurane wirken aber nicht nur auf die Bakterienzelle. Atrophie der Tubuli seminiferi nach Furadantingaben wurde beschrieben und an Tieren experimentell untersucht (9). Eine zytostatische Wirkung ist therapeutisch nicht ausnützbar, obwohl einige erfolgreiche Fälle beschrieben wurden (41). In ihrem Wirkungsmechanismus unterscheiden sich die Nitrofurane also grundsätzlich von anderen antibakteriellen Stoffen, wie den Sulfonamiden, dem Chloramphenicol

oder dem Penicillin. Bemerkenswert ist ferner der geringe Anteil der resistenten Stämme, deren Anteil seit Einführung des Medikamentes auch nicht (64, 38) oder nur sehr geringfügig (36, 65) angestiegen ist. Auch die Dauertherapie führt nicht zur Ausbildung einer Keimresistenz (24). In vitro ist es dagegen möglich, *E. coli* und andere Bakterien gegen Furadantin genauso wie gegen andere Antibiotika durch fortlaufende Überimpfung auf furadantinhaltigen Nährböden steigender Konzentration resistent zu machen.

4. Antibakterielle Wirksamkeit in vitro

Die Angaben über die minimale Hemmkonzentration variieren bei den einzelnen Autoren. Die höchsten Konzentrationen benötigte Vömel (73) mit dem Membranfilterverfahren. Beim Reihenverdünnungstest, der in etwas abgewandelter Form in der vorliegenden Arbeit verwendet wurde, zeigt sich bei Nitrofuranen deutlicher als bei anderen Substanzen eine Abhängigkeit des Ergebnisses von überimpfter Keimzahl und Bebrütungsdauer bis zur Ablesung. Furadantin wirkt bakteriostatisch, in höheren Dosen bakterizid (66). Es wirkt auch auf ruhende Keime; hierbei müssen aber noch höhere Dosen als zur Erzielung des bakteriziden Effektes sonst notwendig sind, angewendet werden (z.B. für *E. coli* doppelt so hohe Konzentration (73)).

O' Connor und Mitarbeiter sowie Carey et. al. (52 und 8) untersuchten die Einwirkung von Altafur^R auf *St. aureus* und von Furoxon^R auf *St. aureus* und von Furoxon^R auf *Salmonella typhi*. Sie weisen darauf hin, daß die Wirkung der Nitrofurane, wenn sie nicht in hohen, bakteriziden Konzentrationen vorhanden waren (so daß innerhalb von 2 Stunden alle Keime abgetötet wurden), durch die verbleibenden metabolisierenden Keime stark beeinträchtigt wird. Diese bauen das Medikament bis zu einer Konzentration ab, die ein Überleben und sogar eine nachfolgende Vermehrung der Keime gestattet. Ferner ist bei verschiedenen Stämmen der gleichen Species die Empfindlichkeit gegenüber Furadantin nicht immer gleich. Einen weiteren Einfluß üben die im Experiment verwendeten Lösungsmittel und Lösungsvermittler aus. Auch eine Verfestigung des Nährmediums durch Agarzugabe scheint von Bedeutung zu sein.

III. MATERIAL UND METHODE

1. Allgemeines

Zur Beobachtung der Morphologie des Bakterienleibes wurden die Keime auf Verdünnungsreihen mit steigender Furadantinkonzentration übertragen. Die hier herangewachsenen Formen wurden auf Deckglaspräparaten weiter untersucht. Ferner wurde auch versucht, die Entstehung von Riesenformen unter dem Phasenkontrastmikroskop zu verfolgen und zu fotografieren.

Die Lebendbeobachtung erfolgte mit einer Zeiss-Winkel-Phasenkontrasteinrichtung unter Verwendung eines Heiztisches, der die Einhaltung einer konstanten Bebrütungstemperatur erlaubte. Die fotografischen Aufnahmen wurden mit einer Zeiss-Aufsetzkamera gemacht. Hierzu wurde Adox KB 14 als Filmmaterial benutzt (Filmempfindlichkeit 14/10' Din).

2. Zur Herstellung der Konzentrationsreihe

Es sollte versucht werden, eine Konzentrationsreihe anzulegen, deren Werte noch mit den höchsten möglichen Harnspiegeln des Furadantins gut übereinstimmen. Darüberhinaus sollten die Konzentrationen hoch genug sein, um auch Keime, die im routinemäßigen Resistenztest nicht furadantinempfindlich sind, noch zu beeinflussen und untersuchen zu können.

Beim Vergleich von Urinspiegel und Furadantinkonzentration im Agar ist das Folgende zu beachten: Im Urin nimmt die Löslichkeit des Furadantins mit steigendem pH von etwa 20 mg% bei sauren Werten bis auf 230 mg% im alkalischen Bereich zu. Trotzdem kommen auch im sauren Harn bei Patienten Konzentrationen bis 40 mg% vor, da bei einer nachfolgenden Ansäuerung die übersättigte Lösung im physiologischen pH-Bereich relativ stabil bleibt und keine Ausfällung auftritt (32). Die tubuläre Reabsorption wird im sauren Milieu gefördert. Die antibakterielle Wirksamkeit ist etwa bis zum Neutralpunkt gleich, bei pH 8,1 jedoch deutlich reduziert. Die Mehrzahl der Urine weist heute pH Werte auf, die im leicht sauren Bereich liegen (73). Die Urinspiegel des Furadantins schwanken entsprechend der verabreichten Dosis, der Applikationsweise und dem Harnvolumen.

Die Verhältnisse im in-vitro Versuch sind demgegenüber etwas abweichend und werden von anderen Faktoren beeinflusst.

Entsprechend dem Wuchsoptimum der meisten Bakterien liegt der pH-Wert des Nährmediums bei 7,2 - 7,4. Da die Wasserlöslichkeit des Furadantins nicht ausreichend ist, müssen Lösungsmittel und Lösungsvermittler herangezogen werden.

Für den Reihenverdünnungstest wird Furadantin in Dimethylformamid gelöst. In Anlehnung an Angaben des Herstellerwerks wurde es hierin unter Zuhilfenahme von TWEEN 20 (Sorbitmonolaurat und 80 Mol Äthylenoxyd) als Lösungsvermittler wie folgt gelöst:

10 mg Furadantin, aufgelöst in

2 ml Dimethylformamid, dann Zufügen von

2 ml TWEEN 20, schließlich Wasserzugabe und zwar

1 ml für eine Stammlösungskonzentration von 2000 mcg/ml oder

6 ml für eine Stammlösungskonzentration von 1000 mcg/l.

Die Stammlösungen wurden dann so weiterverdünnt, daß die pro Röhrchen benötigte Furadantinmenge in 1 ml enthalten war. Zu jeweils 1 ml Lösung wurden 4 ml Agar zugegeben.

Verwendet wurde folgende Konzentrationsreihe:

Röhrchen-Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Konz. (mcg/ml)	1,5	3,1	6,25	12,5	25	50	100	200	400

Innerhalb des noch gut mit den erreichbaren Harnspiegeln korrelierenden Konzentrationsbereiches war die Verwendung von Dimethylformamid gut möglich. Es zeigte sich aber, daß in den Röhrchen mit den höchsten Konzentrationen die Eigenwirkungen des Lösungsmittels zu stark hervortraten. Deshalb wurden in Kontroll- und Leerversuchen die für die hier angestellten Versuche geltenden Erfordernisse ermittelt, da ja wegen der schlechten Löslichkeit des Furadantins zur Erreichung hoher Furadantinkonzentrationen im Agar zwangsläufig auch höhere Lösungsmittelkonzentrationen auftreten. Es ergab sich: TWEEN wirkt nicht wachstumshemmend. Bei zu hohen Zusätzen (ca. ab 1:25) zeigte sich jedoch eine bleibende Verflüssigung des Agars. Dimethylformamid bewirkte auch bei einer Konzentration von 1:32 noch eine sehr deutliche Beeinflussung von *Ps. pyocyanea*. Ähnliche Werte fand Naumann (48) für diesen Keim und für *Aerobakter aerogenes* während die übrigen untersuchten Keime etwas weniger empfindlich waren. Eine Störwirkung war hier nur bis zu einer Verdünnung von 1:10 und 1:20 feststellbar (48).

Polyäthylenglykol 300 ließ sich bis zu einer Konzentration von 1:8 zusetzen, ohne daß eine makroskopisch feststellbare Hemmung des Wachstums oder mikroskopische Veränderungen der Bakterien zu sehen waren.

Dementsprechend wurde versucht, höher konzentrierte Furadantinlösungen mit Hilfe des Polyglykols 300 herzustellen, in dem auch das zur Instillation bestimmte Furadantin vorgelöst wird. Die Stammlösung war 0,6 %ig in Anlehnung an Angaben von Schneierson (65) zur Methodik des Reihenverdünnungs-

testes). Sie wurde so wie vorher angegeben weiter verdünnt. Trotzdem ist auch hier die erreichbare Furadantinkonzentration begrenzt. Furadantin löst sich nicht so schnell auf, wie im Dimethylformamid. Bei Wasserzugabe besteht ferner die Gefahr der Wiederausfällung des gelösten Stoffes. Auch angewärmte und sorgfältig mit dem Agar vermischte Lösungen neigen bei 400 mcg/ml (entsprechend Röhrchen 9) beim Erkalten des Agars zur Auskristallisation in feinen Nadeln.

Es war deshalb nicht möglich, in einwandfreier Weise Konzentrationen im Agar zu erreichen, die die möglichen Harnkonzentrationen nennenswert überstiegen. Dadurch konnten therapieresistente Keime (vor allem *Ps. pyocyanea*) nicht mit in die Untersuchung einbezogen werden.

3. Nährbodenherstellung

Entsprechend den Wachstumsansprüchen der zur Untersuchung verwendeten Keime wurde mit einfachem Nähragar folgender Zusammensetzung (bezogen auf 1000 ml aqua dest.) gearbeitet:

25 g Pepton e carne "Merck", trypt. verdaut,

20 g Difco - Agar

5 g Kochsalz

Der Nährboden wurde mit einigen Tropfen 10 %iger NaOH auf einen pH-Wert von 7,2 eingestellt.

Für die Deckglaspräparate erwies sich ein weniger steifer Agar als günstiger. Um die erwünschte Agarkonzentration von 1 % einhalten zu können, wurde gegenüber der obigen Vorschrift die Agarmenge halbiert. Gleichzeitig wurde auch das vorher in die Röhrchen steril einpipettierte Volumen der Furadantinlösung (1 ml auf 5 ml Agar-Endvolumen) vom Gesamtvolumen des Agars abgezogen. Auf 100 ml aqua dest. (für die Deckglaspräparate sind geringere Nährbodenmengen ausreichend!) -entsprechend 125 ml Endvolumen- entfallen also:

3,0 g Pepton e carne

1,25 g Agar

0,75 g Kochsalz

Auf diese Weise arbeitet man mit einem Medium, dessen Furadantinkonzentration veränderlich, dessen Nährstoffkonzentration und Konsistenz aber konstant bleiben.

4. Herstellung der Agardeckglaspräparate

Auf sterile Objektträger, die über einer Flamme leicht erwärmt werden, bringt man mit einer angewärmten Pipette 0,1 bis 0,2 ml verflüssigten Nähragar. Es ist notwendig, daß der zur Verwendung kommende Nährboden völlig klar ist. Sowie der Agar in einer gleichmäßigen Schicht von etwa 0,5 - 1 mm Höhe erstarrt ist, wird mit einem sterilen Deckgläschen ein viereckiges Stück der gewünschten Größe ausgeschnitten und die Abfallstreifen entfernt. Man läßt die Agarschicht gegen Auffall von Luftkeimen durch Überdecken mit einer Petrischale geschützt, etwa 5 Minuten antrocknen und bringt dann durch vorsichtiges Ausstreichen die gewünschten Keime in möglichst wenig Suspensionsmedium auf. Anschließend wartet man wieder, bis die Impf-
flüssigkeit aufgesogen ist, legt dann vorsichtig ein steriles Deckglas auf und verschließt das Präparat mit erwärmtem und flüssig gemachtem Paraffin an den Rändern zum Schutz gegen Austrocknung während der Beobachtung und Bebrütung. Diese Form des Präparates wurde von Knöll 1944 angegeben und als Deckglas-Agarpräparat bezeichnet (45).

5. Verwendete Bakterienstämme

Zu den Untersuchungen wurden Laborstämme von *E. coli* 0 111 und *E. coli* 0 55 sowie von *Salmonella typhi* und *S. paratyphi* B benutzt. Dazu kamen frisch isolierte Stämme von *Staph. aureus* und *St. albus*, *Strept. viridans* und *Str. pyog.*, Enterokokken, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas pyocyanea*, *Aerobakter aerogenes* und *Alkaligenes faecalis*.

Alle Stämme wurden vor der Verimpfung auf die furadantinhaltige Konzentrationsreihe oder auf ein Deckglaspräparat über einige Passagen auf Nähragar (Streptokokken auf Blutplatten) fortgeführt, bis ein völlig einheitliches morphologisches Bild im mikroskopischen Ausstrich erreicht war. Die untersuchten Keime umfassen also alle wichtigen Harnwegserreger und einen Teil der Enterobakterien.

6. Versuche mit synthetischem Nährmedium

Schoog (66) stellte an Hand von Atemkurven von *E. coli* fest, daß bei gleicher Bakteriendichte und gleicher Furadantinkonzentration die Wirkung des Furadantins bei der Verwendung eines künstlichen Nährmediums stärker hervortrat. Dieser Effekt ließ sich durch Zugabe von Pepton wieder aufheben.

Braun und Mitarbeiter (7) stellten bei der Untersuchung der LiCl-Riesenformen von *S. paratyphi* fest, daß auf festem Nähragar häufiger Riesenformen wuchsen, als in flüssigem Medium, auch wenn dieses peptonfrei war. Wurde jedoch durch Hinzufügen von Agar dieses synthetische Medium verfestigt, so war eine bessere Ausbeute an LiCl-Riesenformen zu beobachten. Deshalb wurden versuchsweise Furadantin-Agar-Konzentrationsreihen von 1,5 - 400 mcg/ml Furadantin ohne Verwendung von Pepton angelegt. Anstelle des Peptons wurde dem Agar eine Nährlösung folgender Zusammensetzung zugefügt: (Angaben bezogen auf 1000 ml Nährlösung):

2	g	NH_4Cl
12	g	Na_2HPO_4
3	g	KH_2PO_4
3	g	NaCl
0,085	g	MgCl_2
0,115	g	Na_2SO_4

Dieser Salzlösung wurde nach dem Sterilisieren noch 0,1 %ige sterile Glukose-lösung zugesetzt.

Der fertige feste Nährboden wurde mit *Ps. pyocyanea* und *E. coli* beimpft. Bei beiden Stämmen zeigte sich in allen Röhrchen ein wesentlich schwächeres Wachstum, gegenüber dem Peptonagar. Die erhoffte bessere Ausbeute an brauchbaren Präparaten blieb aber aus, so daß diese Versuche nicht fortgesetzt wurden.

IV. E R G E B N I S S E

1. mit grampositiven Kokken

Die Kokken wurden, da sie zu den wichtigsten Entzündungserregern im Harntrakt gehören, mituntersucht. Bei anderen aus der Literatur bekannten Versuchen mit formändernden Substanzen hatten sich die kugelförmigen Bakterien (mit gewissen Ausnahmen bei den Streptokokken) fast immer als ungemein formstabil erwiesen.

Das war auch bei den Versuchen mit Furadantin der Fall. *Staph. aureus* und *St. albus*, *Strept. pyog.* und *Str. virid.* sowie die Enterokokken zeigten im Präparat zwar häufiger größere und stärker anfärbbare Kokken, markantere Veränderungen blieben aber aus. Die Furadantinkonzentration im letzten noch bewachsenen Schrägröhrchen lag dabei für Streptokokken bei 25 mcg/ml, für die Staphylokokken bei durchschnittlich 37,5 mcg/ml und für die Enterokokken zwischen 50 - 100 mcg/ml.

2. mit gramnegativen Stäbchen

a) Aussehen der Riesenformen

Von den untersuchten Bakterienstämmen zeigten *E. coli*, die Salmonellen und *Aerobakter* die Bildung von Riesenformen. Die bei diesen gramnegativen Stäbchen sichtbaren Formen waren unverzweigte, in ganzer Länge überall gleich dicke, faden- oder schlauchförmige, manchmal eigenartig gewellte Gebilde. Zwischen den Riesenformen der einzelnen Bakterienarten bestanden keine grundsätzlichen Unterschiede. Es fiel auf, daß bei *S. typhi* und *S. paratyphi B* -verglichen mit *E. coli*- stets ein größerer Anteil solcher Riesenformen vorhanden war, die in ihrem Plasma eine feine oder gröbere Granulierung erkennen ließen. Nach Knöll und Zapf (39) ist das Auftreten dieser Granula ein Zeichen für das Absterben der Bakterienzelle. Die betreffenden Fadenformen wuchsen nicht. Es erfolgten keine Zellteilungen. Sie waren unbeweglich.

Gebilde mit Auftreibungen des Bakterienleibes, wie sie unter der Einwirkung von Penicillin regelmäßig zu sehen sind, wurden nur sehr selten beobachtet. So zeigt Abbildung 2 einen Sphaeroplasten von *E. coli*, der sich bei einer Furadantinkonzentration von 9,3 mcg/ml im Agardeckglaspräparat im Ver-

lauf von ca. 60 Min. aus stäbchenförmigen Colibakterien entwickelt hat. Ein ähnliches Gebilde bei *S. typhi* zeigt Abbildung 6. Die Konzentration betrug hier 6,25 mcg/ml. Eine Riesenform von *S. paratyphi* mit einer deutlichen spindeligen Auftreibung des Bakterienleibes ist auf Abbildung 7 zu sehen. Sie entstand bei einer Furadantinkonzentration von 6,25 mcg/ml.

b) Länge der Riesenformen

Die bei den Fadenformen von *S. typhi*, *S. paratyphi*, *E. coli* und *Aerobacter aerog.* erreichten Längen zeigten keine größeren Differenzen. Die Durchschnittslänge war von der Furadantinkonzentration abhängig. Es waren bei nahezu allen Versuchen auch in den niedrigen Konzentrationsstufen einige fast maximal verlängerte Keime unter der sonst noch unveränderten Population zu finden. Mit steigender Konzentration nahm auch die Anzahl der morphologisch veränderten Keime zu. In der Regel fanden sich im letzten noch bewachsenen Röhrchen (für Salmonellen und *E. coli* meist Röhrchen Nr. 5 (25 mcg/ml), manchmal auch Nr. 6 (50 mcg/ml) die meisten und die längsten Riesenformen. Ihre Längen schwankten im Durchschnitt zwischen 10 - 30 μ . Die längsten Exemplare erreichten 180 μ , und überschritten somit den Gesichtsfelddurchmesser.

Die Breite der Fadenformen war bei der Mehrzahl der Riesenformen gegenüber den Bakterien des Ausgangsstammes nicht verändert. Entsprechend ihrer etwas schlankeren Gestalt zeigten die aus den Salmonellastämmen entstehenden Filamente eine etwas geringere Dicke, als die von *E. coli* ausgehenden. Bei *Proteus vulg.* waren unter der Furadantinwirkung die allermeisten Keime morphologisch unverändert. Nur ganz vereinzelt zeigten sich plumpe und verdickte, manchmal etwas gebogene Bakterien. Die Konzentration des letzten noch bewachsenen Röhrchens lag bei 100 mcg/ml.

c) Beobachtung der Entwicklung von Riesenformen

Die Zeit, die zum Heranwachsen einer Riesenform benötigt wird, ließ sich durch Beobachtung von Deckglaspräparaten ermitteln, die im Brutschrank oder unter dem Heiztisch bebrütet wurden. Ferner wurden auch aus Schrägagar-röhrchen in Abständen Ausstriche angefertigt und untersucht.

Nach einer Stunde ergaben sich gegenüber der Ausgangskultur noch keine Veränderungen. Erst nach 1 1/2 Stunden war eine Streckung der Stäbchen erkennbar. Riesenformen waren kaum vor Ablauf von 2 Stunden nach Anfertigung des

Agarpräparates zu sehen. In den meisten Versuchen wurden hierzu 3 Stunden Bebrütungszeit benötigt. Nach dieser Zeit war dann bei *E. coli*, *S. typhi* und *paratyphi B* und bei *Aerobakter aerog.* eine Verlängerung des Bakterienleibes auf ein Mehrfaches der Ausgangslänge eingetreten. Eine längere Bebrütungszeit brachte bei den meisten Versuchen keine wesentlich bessere Riesenformausbildung. Eine Ausnahme ergab sich hier bei *S. paratyphi B*, wo zwar auf dem Schrägagar nach 3 h Riesenformen zu sehen waren, die benötigte Zeit in der Deckglaskultur aber öfter deutlich länger war. Die auf Abbildung 8 sichtbare Mikrokultur war erst nach 10 1/2 Stunden herangewachsen!

Ein Zusammenhang zwischen Furadantinkonzentration und benötigter Zeit war nicht deutlich. Die optimale Konzentration zur Riesenformbildung im Deckglaspräparat lag meist 2 Stufen unter der im Schrägagar ermittelten Wachstumsgrenze. Im Schrägagar war die Ausbeute an Riesenformen in der Regel im letzten noch bewachsenen Röhrchen am besten.

Verwendet wurden anfangs 18 - 24 h alte Kulturen, später jüngere (8 - 10 h alt). Es erwiesen sich jedoch auch wenige Tage im Kühlschrank aufbewahrte Kulturen als verwendbar.

d) Weitere Entwicklung der Riesenformen

Überträgt man Riesenformen, die sich auf furadantinhaltigem Schrägagar nach einigen Stunden Bebrütungszeit gebildet haben, auf ein Agardeckglaspräparat mit antibiotikafreiem Nährboden und bebrütet dieses weiter unter dem Heiztisch, so kann man folgende Beobachtungen machen: Der unverändert gebliebene Anteil der Bakterien beginnt sich nach 30 - 60 Minuten in die Länge zu strecken und teilt sich normal weiter. Die Riesenformen verhalten sich je nach Länge und Alter unterschiedlich. Kurze, von etwa 2-4 facher Normallänge (entsprechend einer Länge von 6-10 μ) unterteilen sich nach ca. 30 - 60 Minuten in Stäbchen normaler Länge und vermehren sich wie diese weiter. (Abbildung 3 und 4). Längere Riesenformen, die schon unbeweglich sind oder Plasmaveränderungen erkennen lassen, können im Verlauf von 1-2 Stunden abblassen, so daß nur noch schwache Umrisse zu erkennen sind. Andere bleiben aber auch über einen Zeitraum von vielen Stunden unverändert liegen (Abbildung 5).

Auch Riesenformen, die noch keine Strukturveränderungen erkennen lassen, können innerhalb eines mehrstündigen Beobachtungszeitraumes völlig unverändert bleiben. Öfter beginnen sie aber, sich unter zunächst noch deutlich feststellbarem Längenwachstum, zu teilen. Diese Teilung beginnt dann meist an den Enden der Fadenform.

Durch die erwähnte starke Vermehrung der normallangen Keime können die

verbleibenden Riesenformen im Gesamtbild völlig verdeckt werden, so daß sich das Bild wieder dem der Ausgangskultur annähert.

e) Beweglichkeit

Bei *E. coli* 0 55 und *S. paratyphi* B sind an antibiotikafesten Stämmen und an Antibiotikariesenformen Geißelveränderungen nachgewiesen worden (69). Die Geißeln entwickelten sich zu größerer Länge als normal. Die hypertrophischen Geißeln waren nicht mehr so stark gewellt. Sie neigten daher zu Adhäsionen. Die Beweglichkeit der betroffenen Bakterien war infolgedessen stark herabgesetzt.

Die Beweglichkeit der Furadantinriesenformen konnte im Agardeckglaspräparat, das reichlicher als sonst mit Bakterienaufschwemmung beimpft worden war, oder im hängenden Tropfen beobachtet werden.

Die auf furadantinhaltige Nährböden überimpften Keime von *Proteus* oder *Ps. pyocyanea* zeigten eine Änderung ihrer Motilität ebensowenig wie morphologische Veränderungen.

Bei den Riesenformen von *E. coli*, *S. typhi* und *paratyphi* B sowie von *Aerobakter* war die Beweglichkeit stark von Länge und Alter der Riesenformen abhängig. Etwa bis zum 2-3 fachen der normalen Körperlänge war die Abnahme nur gering. Bei längeren Fadenformen nahm dann die in der Zeiteinheit zurückgelegte Wegstrecke stärker ab, als die Bewegungsintensität des Bakterienleibes. Sehr lange Fadenformen zeigten nur noch Hin- und Herbewegungen am Ort ohne Fortbewegungserfolg. Ältere Riesenformen und ein Teil der sehr langen Fäden ließ überhaupt keine Eigenbeweglichkeit mehr erkennen, sondern sie wurden allenfalls passiv durch Strömungen fortbewegt.

f) Gramverhalten

In der Literatur wurden öfter Änderungen des Gramverhaltens bei Involution- und Riesenformen beschrieben. Terry und Mitarbeiter (72) fanden, daß die bei erhöhter Züchtungstemperatur gewachsenen *Clostridien*formen sich gramnegativ verhielten. Aber auch das Umgekehrte ist möglich; Sander (62) berichtet, daß sich atypische Formen ursprünglich gramnegativer Bakterien bei seinen Untersuchungen öfter grampositiv verhielten oder grampositive Granula aufwiesen. Die unter Furadantin entstandenen Riesenformen von *E. coli*, *Aerobakter* und *S. typhi* und *paratyphi* B blieben im Ausstrichpräparat ebenso wie die gleichzeitig vorhandenen morphologisch nicht oder nur geringer veränderten Keime gramnegativ. Ebenso verhielten sich die unter hohen Furadantinkonzentrationen gewachsenen und dabei nicht sichtbar veränderten Stämme von *Proteus*, *Pyocyaneus* und *Alkaligenes faecalis*. Enterokokken blieben grampositiv.

V. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die unter der Einwirkung des Furadantins bei *E. coli*, *S. typhi* und *S. paratyphi B* sowie bei *Aerobakter aerogenes* entstandenen Riesenformen sind in ihrem Erscheinungsbild und in ihren Eigenschaften untereinander sehr ähnlich, entsprechend der nahen Verwandtschaft der 4 Bakterien-species.

Bei *Proteus*, der sonst sehr zur Formvariabilität neigt, und Schwarmfäden ausbildet, die den hier beschriebenen Riesenformen sehr ähnlich sind, kam es unter Furadantineinwirkung nicht zu Veränderungen des Bakterienleibes. Bis zu einer Konzentration von durchschnittlich 100 mcg/ml waren nur kurze Stäbchen zu sehen, bei höheren Konzentrationen wurde das Wachstum der *Proteus*-stämme völlig unterdrückt.

Bei *Ps. pyocyanea* konnten ausreichend hohe wachstumshemmende Konzentrationen nicht erreicht werden. Die Eigenwirkung des Lösungsmittels Dimethylformamid machte sich hier störend bemerkbar. Unter der alleinigen Einwirkung von Dimethylformamid entstanden Fadenformen, die den oben beschriebenen, durch Furadantin ausgelösten stark ähnelten.

Es ist bemerkenswert, daß bei allen untersuchten Stämmen, die auf Furadantin mit der Bildung von Riesenformen reagierten, auf Schrägagar (2 %ig) deutlich größere Längen erreicht wurden als im Deckglaspräparat. Die Agarkonzentration des Deckglaspräparates betrug 1 %, da ein zu steifer Agar behindernd wirkt. Das Agar-Deckglas-Präparat unterscheidet sich aber vom Schrägagar nicht nur durch die unterschiedliche Konsistenz, sondern auch durch fehlenden Luftzutritt. (Um über längere Zeiträume bebruten und beobachten zu können, ist wegen der Austrocknungsgefahr eine vollständige Abdichtung nicht zu umgehen.) Zu diskutieren bleibt ferner, ob nicht bei der verhältnismäßig geringen und in so dünner Schicht ausgebreiteten Agarmenge insbesondere bei reichlicher Beimpfung oder bei starker Bewachung ähnliche Verhältnisse auftreten können, wie sie O' Connor und Mitarbeiter (8, 52) in flüssigen Kulturen gefunden haben. Die Autoren untersuchten den Verlauf der Einwirkung von Altafur^R auf *St. aureus* sowie von Furoxon^R auf *S. typhi*.

Sie stellten dabei fest, daß bei Konzentrationen, die unterhalb der bakteriziden Dosis liegen und bei gleichzeitigen Keimdichten ab 10^7 Bakterien/ml Kulturflüssigkeit innerhalb von 2 bis 3 Stunden durch die Aktivität der Bakterien ein ganz erheblicher Teil des Chemotherapeutikums unwirksam gemacht wurde. So sank die Altafur-Konzentration in Gegenwart von 10^8 *St. aureus*-Keimen pro ml innerhalb von 3 Stunden von 10 auf 4 mcg/ml!

Eine Überschlagsrechnung ergibt, daß bei zu starker Beimpfung, insbesondere aber bei starker Vermehrung der verimpften Keime im Deckglaspräparat vergleichbare Keimdichten erreicht werden könnten. Die verbleibende Furadantin-

konzentration wäre zu niedrig, um nennenswerte Veränderungen der Bakterien zu bewirken.

Vergleiche der Furadantinriesenformen mit den von anderen Untersuchern durch andere Antibiotika oder physikalische Einwirkungen hervorgerufenen Filament- oder Fadenformen sind wegen der Vielzahl der Faktoren, die neben dem zu prüfenden Agens einen Einfluß auf die Morphologie des Bakterienleibes und das Strukturbild des Protoplasmas haben (Keimart, Nährbodenzusammensetzung und -Konsistenz, pH-Wert, Bebrütungsdauer und Züchtungstemperatur, Färbe- oder Beobachtungsverfahren), nur mit Einschränkungen möglich.

Trotzdem ist deutlich, daß die auf den Zellwandaufbau der Bakterien einwirkenden antibiotischen Stoffe, wie das Penicillin, andere Formen entstehen lassen.

Besser vergleichbar sind die Furadantin-Riesenformen mit den unter subletalen Dosen von UV-Licht, hohem Überdruck oder erhöhter Temperatur herangewachsenen Bakterien.

Die größte Übereinstimmung in Form und Länge besteht jedoch zu den Riesenformen von *E. coli* und Salmonellen, die Stehr (69) mit derselben Versuchsanordnung wie in der vorliegenden Arbeit unter dem Einfluß von Tetracyclin beschrieben hat. Bezüglich der Zeitangaben besteht eine gute Übereinstimmung mit den Angaben von O' Connor, der bei *S. typhi* nach 2 Stunden Riesenformen feststellte (52).

Die benötigten Hemmkonzentrationen lagen im oberen Bereich der Angaben von Walter und Heilmeyer (75).

Nach unseren heutigen Kenntnissen lassen sich die entstandenen heteromorphen Bakterienformen als Reaktionsformen der Bakterien auf subletale Schädigungen ansehen (69).

ZUSAMMENFASSUNG

Es sollte geprüft werden, ob sich ähnliche morphologische Veränderungen, wie sie bei Enteritiscoli und Salmonellen unter dem Einfluß von Penicillin, Tetracyclin und Chloramphenicol beschrieben worden sind, auch bei Entzündungserregern des Harntraktes sowie bei Salmonellen unter dem Einfluß von Furadantin nachweisen lassen.

In der Literaturübersicht wird dargelegt, seit wann Riesenformen bei Bakterien bekannt sind und geschildert, unter welchen Einwirkungen sie auftreten. Es wird auf die Nährbodenzusammensetzung, Salzzusätze, Desinfizientien und Chemotherapeutika sowie verschiedene Strahlenarten, erhöhte Züchtungstemperatur und hohen Überdruck, ferner den Einfluß neuerer antibiotischer und cytostatischer Stoffe als auslösende Ursachen für einen Heteromorphismus bei Bakterien eingegangen. Die derzeitigen Deutungen und Erklärungsversuche werden kurz beschrieben. Das Verhalten der wichtigsten Harnwegserreger und von Salmonellen gegenüber Furadantin wurde auf Schrägagar-Konzentrationsreihen und im Agar-Deckglaspräparat untersucht.

Es entstanden bei *E. coli*, *Aerobakter aerogenes* und *Salmonella typhi* und paratyphi B in der Mehrzahl fadenartige Riesenformen von einer durchschnittlichen Länge zwischen 10 - 30 μ . Einzelexemplare erreichten eine Größe von über 100 μ . Andere Formelemente, wie spindelige Auftreibungen oder Sphaeroblasten waren nur sehr selten zu beobachten.

Entstehung und weitere Entwicklung dieser Bakterienformen wurde mit Hilfe des Phasenkontrastmikroskops beobachtet und photographisch festgehalten. Bei *E. coli* und den Salmonellen zeigen die unter der Einwirkung von Furadantin entstehenden Riesenformen eine große Ähnlichkeit zu den unter dem Einfluß von Tetracyclin beschriebenen Formveränderungen.

VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN

ABBILDUNG 1

E. coli 0 55, Riesenformen nach 75 Minuten Bebrütung unter dem Heiztisch bei 25 mcg/ml Furadantinkonzentration.

ABBILDUNG 2

E. coli 0 111, Sphaeroblast der sich nach ca. 60 Min. aus einer Stäbchenform gebildet hat (9,3 mcg/ml).

ABBILDUNG 3

E. coli 0 55, Riesenformen gewachsen auf Furadantin-Schrägagar (Konzentration 50 mcg/ml). Aufnahme 50 Min. nach der Übertragung auf Nähragar.

ABBILDUNG 4

E. coli 0 55, dieselbe Einstellung wie Abbildung 3. Aufnahme 60 Min. später. Die Riesenformen haben sich geteilt.

ABBILDUNG 5

S. typhi, Riesenformen, entstanden bei 6,25 mcg/ml Furadantinkonzentration.

ABBILDUNG 6

S. typhi, kürzere Fadenformen und sphärische Form, entstanden bei 6,25 mcg/ml Furadantin.

ABBILDUNG 7

S. paratyphi B, Riesenform mit spindelförmiger Auftreibung des Bakterienleibes (6,25 mcg/ml Furadantinkonzentration).

ABBILDUNG 8

S. paratyphi B, Mikrokolonie mit Riesenformen, entstanden nach 10 1/2 stündiger Bebrütung unter dem Heiztisch. Furadantinkonzentration 50 mcg/ml.

Am Schluß meiner Arbeit danke ich Herrn Priv.-Doz.
Dr. K. STEHR für die Überlassung des Themas und für
die freundliche Unterstützung während der Durchfüh-
rung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. D. VOGT danke ich ebenfalls sehr
herzlich für die Übernahme des Korreferates.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Adler, H.J. und Hardigree, A.A.:
Growth and division of filamentous forms of *E. coli*.
J. Bact. 90 (1965) 223-226
- 2) Almquist, E.: Neue Entwicklungsformen des Choleraspirills und der Typhusbakterie.
Zbl. Bakt. I. Orig. 37 (1904) 18
- 3) Asnis, R.E. und Gots, J. S.:
Studies on the action of Nitrofurans on bacterial enzyme systems. I. The inhibition of bacterial respiration by Furacin.
Arch. Biochem. 30 (1951) 25-34
- 4) Bender, H.: Studien zum L-Zyklus der Bakterien nach Untersuchungen an *Proteus vulg.* unter Penicillin.
Arch. Mikrobiol. 28 (1957) 18-33
- 5) Berrah, G. und Konetzka, W.:
Selective and reversible inhibition of the synthesis of bacterial DNA by Phenethyl-alcohol.
J. Bact. 83 (1962) 738-744
- 6) Bisset, K. A.: The development of the surface of dividing bacteria.
J. gen. Microbiol. 5 (1951) 155
- 7) Braun, H., Berg, St., Kessler, S. und P. Mavroidi:
Über die Anormomorphogenese bei Bakterien.
Med. Monatsschrift 8 (1954) 446-456
- 8) Carey, W. F., Russell, H. E. and O' Connor, J. R.:
The effect of Nitrofurans on the survival of bacteria in vivo.
Antimicrobial agents & Chemother. (1960) 152-158
- 9) Carroll, G. and Brennan, R. V.:
Furadantin. A preliminary report.
J. Urol. 71 (1954) 650
- 10) Cottier, P., Strausak, A., Hiltbold, P.:
Diagnose und Therapie der chronischen Pyelonephritis.
Schweiz. Med. Wschr. 88 (1958) 463

- 11) Cramer, D. L., Dodd, M. C.;
The mode of action of Nitrofurane compounds versus
S. aureus.
J. Bact. 51 (1946) 293
- 12) Curry, J. and Greenberg, J.:
Filament formation in radioresistant mutants of *E. coli*
S - strains after treatment with ultraviolet light and
radiomimetic chemicals.
J. Bact. 83 (1962) 38-42
- 13) Dann, O., und Möller, E. F.:
Bakteriostatisch wirkende Nitroverbindungen des
Thiophens und Furans.
Chem. Ber. 80 (1947) 23
- 14) Deering, R. A.: Studies on division inhibition and filament formation
of *E. coli* by ultraviolet light.
J. Bact. 76 (1958) 123
- 15) Döll, W.: Die Ergebnisse von 5000 bakteriologischen Resistenz-
bestimmungen gegen Chemotherapeutika.
Arzneimittelforsch. 15 (1965) 1091-1096
- 16) Feingold, D. S.: Antimicrobial agents.
N. Engl. J. Med. 269 (1963) 900-957
- 17) Friedrich, W.: Biochem. Wirkungsmechanismen wichtiger Antibiotika.
Med. Welt 1963, S. 2532-2538 und S. 2598-2610
- 18) Gamaleia, N.: Elemente der allgemeinen Bakteriologie.
Berlin Verlag Hirschwald (1900)
- 19) Gardner, A. D.: Morphological effects of Penicillin on bacteria.
Nature (London) 146 (1940) 837
- 20) Gates, F. L.: The reaction of individual bacteria to irradiation with
ultraviolet light.
Science 77 (1933) 350
- 21) Grieder, F., Neipp, L. und R. Meier:
Beitrag zur Charakterisierung des Wirkungstyps anti-
bakterieller Stoffe.
Schweiz. Zschr. Allg. Path. u. Bakt. 17 (1954) 703

- 22) Grothuesmann, H. G. :
Aktuelle Fragen der Chemotherapie bakterieller Urogenitalinfektionen.
Ther. d. Gegenwart 103 (1964) 445
- 23) Grula, E. A. , Grula, M. M. :
Cell division in a species of *Erwinia*. III. Reversal of inhibition of cell-division caused by d-aminoacids, Penicillin and ultraviolet light.
J. Bact. 83 (1962) 981
- 24) Haschek, H. :
Erfahrungen mit der Langzeitbehandlung der chronischen Pyelonephritis (Spätergebnisse).
Wiener Klin. Wschr. 73 (1961) 929-938
- 25) Haschek, H. :
Die Langzeittherapie der chronischen Entzündungen des Urogenitalsystems.
Der Urologe 2 (1963) 20-27
- 26) Heinzel, E. :
Experimentelle Untersuchungen zur Ausbildung von Faden- und Kettenform bei *B. prodigiosum*.
Arch. Mikrobiol. 15 (1950) 119
- 27) Hirsch, J. :
Antibiotika in vitro und in vivo.
Mschr. Kinderheilk. 99 (1951) 5-13
- 28) Hoffmann, H. , Frank, M. :
Temperature limits, genealogical origin, developmental course and ultimate fate of heat induced filaments in *E. coli* microcultures.
J. Bact. 85 (1963) 1221-1234
- 29) Höpken, H. , Bartmann, K. :
Phasenkontrastmikroskopische Beobachtungen des durch Penicillin ausgelösten L-Zyklus bei *B. proteus*.
Zbl. Bakt. I. Orig. 162 (1955) 372
- 30) Höpken, H. , Bartmann, K. :
Zur Frage des unvollständigen L-Zyklus. Phasenkontrastmikroskopische Beobachtungen des durch Penicillin bei *B. faecalis* alkaligenes ausgelösten L-Zyklus.
- 31) Hughes, W. H. :
The structure and development of the induced long forms of bacteria in: *Bacterial Anatomy*, Cambridge University Press 1956, S. 341-360

- 32) Kähler, H.J.: Nitrofurantoin. Möglichkeiten und Grenzen seiner
therapeutischen Anwendung.
Med. Klinik 61 (1966) 505-509
- 33) Klieneberger, E.: Bakterienpleomorphismus und Bakterienentwicklungs-
gänge.
Erg. Hyg. Bakt. Immunforsch. 11 (1930) 499-555
- 34) Knöll, H., Zapf, K.:
Untersuchungen zum Problem des Bakterienzellkerns.
Zbl. Bakt. 1. Orig. 157 (1951) 389 (1. Mitt.) und
ebenda 161 (1953) 241 (2. Mitt.)
- 35) Lea, D.E., Haines, R.B., Coulson, C.A.:
The mechanism of bactericidical action of radioactive
radiations.
Proc. Royal Soc. of London, Ser. B. 120 (1936) 47-75
und Ser. B. 123 (1937) 1-21
- 36) Legler, F.: Zur Frage der derzeitigen Empfindlichkeit häufiger Er-
reger von Harnwegsinfekten gegen Furadantin.
Arzneimittelforsch. 15 (1965) 299
- 37) Linz, R., Lecoq, E.:
Lyse des bactéries sensibles soumises à l'action de la
streptomycine.
Cpt. Rend. Soc. Biol. (Paris) 148 (1954) 1302
- 38) Linzenmeier, G.: In-vitro-Versuche mit verschiedenen Nitrofuranen.
II. Int. Sympos. Chemother. Neapel 1961,
S. Karger Basel 1963, S. 10-16
- 39) Loeveless, L.E., Spoerl, E., Weisman, T.H.:
A survey of effects of chemicals on division and growth
of yeast and E. coli.
J. Bact. 68 (1954) 637
- 40) Maaßen, A.: Die teratologischen Wuchsformen bei Bakterien und
ihre Bedeutung als diagnostisches Hilfsmittel.
Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamt 21 (1904) 385
- 41) MacLeod, P.F.: The multiplicity of Nitrofuran activity.
III. Int. Congr. Chemother. Stuttgart 1963,
Thieme Verlag (1964) Band I, S. 551

- 42) McCalla, D.R.: Effects of some Nitrofurans on DNA-synthesis and prophage induction.
Canad. J. Biochem. 42 (1964) 1245-1247
- 43) McCalla, D.R.: Nitrofuran derivatives as radiomimetic agents.
Cross resistance studies with E.coli.
Canad. J. Microbiol. 11 (1965) 185-191
- 44) Meyer-Rohn, J., Tudyka, K.:
Gestaltsänderungen von E.coli unter der Einwirkung von Antibiotika, Sulfonamiden und chem. u. physikal. Noxen.
Arzneimittelforsch. 7 (1957) 151-157
- 45) Metz, H.: Beiträge zur Morphologie und Biologie der Litium- und Caesiumformen der Salmonella paratyphi B.
Zbl. Bakt. I. Orig. 171 (1958) 461-469
- 46) Munson, R.J., Maclean, F.I.:
The nature and radiation sensitivity of the long forms of E.coli B/r.
J. gen. Microbiol. 25 (1961) 17-27
- 47) Murabito, C., Seiser, A.:
Der Einfluß der Züchtungstemperatur auf die Morphologie und Vermehrungsgeschwindigkeit von Bakt. Coli.
Arch. Hyg. 107 (1931) 290
- 48) Naumann, P.: Furadantintherapie der Harnwegsinfekte aus bakteriologischer Sicht.
Die Medizinische 1958, S.164
- 49) Norfleet, Ch., Beamer, R., Carpenter, H.:
Furadantin in infections of the genito-urinary tract.
Southeast. Sect. Am. Urol. Ass. 1952, reprinted J. Urol. 71 (1953) 113-118
- 50) Nickerson, W.I., Webb, M.:
Effect of folic acid analogues on growth and division of nonexacting microorganisms.
J. Bact. 71 (1954) 129
- 51) Ocklitz, H.-W.: Die Harnwegsinfektion beim Kinde.
Das Deutsche Gesundheitswesen 16 (1961) 1580

- 52) O' Connor, J. R., Russell, H. E., Carey, W. F.:
Alterations in bacterial morphology in relation to the
therapeutic activity of Nitrofurans.
II. Int. Sympos. Chemother. Neapel 1961,
S. Karger Basel 1963, Band VI, S. 1-9
- 53) Payne, J. I., Hartmann, P. E., Mudd, S., Philips, A. W.:
Cytological analysis of ultraviolet-radiated *E. coli*.
III. Reaction of a sensitive strain and its resistant
mutants.
J. Bact. 72 (1956) 461
- 54) Pitzurra, M., Szibalski, W.:
Formation and Multiplication of spheroblasts in *E. coli*
in presence of LiCl.
J. Bact. 77 (1959) 614
- 55) Plempel, M.: Biochemische Wirkungsmechanismen und antibakterielle
Wirkungsweise der Antibiotika,
Therapiewoche 15 (1965) 1078
- 56) Prittwitz und Gaffron, J. v.:
Zum Gestaltwandel der Bakterien.
Naturwissensch. 40 (1953) 590-594
- 57) Raettig, H. -J.: Die morphologische Wechselwirkung zwischen Bak-
terien und Phagen und die Lysome als neues Formele-
ment.
Zbl. Bakt. I. Orig. 161 (1954) 260
- 58) Reckendorf, H. K., Castringius, R., Spingler, H.:
Die pharmakodynamischen Grundlagen der oralen und
parenteralen Furadantintherapie in der Klinik,
Med. Welt 15 (1963) 816
- 59) Reploh, H., Otte, H. -J.:
Lehrb. Med. Mikrobiol. 2. Aufl.
G. Fischer Stuttgart 1965
- 60) Richards, W. A., Riss, E., Kass, E. H., Finland, F.:
Nitrofurantoin, clinical and laboratory studies in
urinary tract infections.
A. M. A. Arch. Int. Med. 96 (1955) 437-450

- 61) Rippel-Baldes, A., Busch, G.:
Über den Gehalt von Involutionsformen der Mikroorganismen an Nukleinsäuren und Aminosäuren.
Nachr. Wiss. Akad. Göttingen, Math.-Phys. Kl.,
Biol. Phys. Chem. Abt. 11 (1954) 23
- 62) Sander, F.: Die atypischen Bakterienformen unter Berücksichtigung des Problems bakterieller Generationswechselvorgänge.
Erg. Hyg. Bakt. Immunforsch. 21 (1938) 338-439
- 63) Schenk, R.: Mikrophotographie.
S. Karger, Basel, 1960
- 64) Schmid, W.: Erreger von Harnwegsinfekten und deren Empfindlichkeit gegen Antibiotika und Chemotherapeutika.
Med. Welt 18 (1966) 1231-1239
- 65) Schneierson, S. St.:
1959 bacterial susceptibility to Nitrofurans as compared to 1953 and 1955.
Antibiotica & Chemother. 10 (1960) 747
- 66) Schoog, M.: Unt. z. Wirkungsablauf mit Nitrofuranderivaten.
Arzneimittelforsch. 6 (1956) 450
- 67) Spoerl, E., Loveless, L. E., Weisman, T. H., Balske, R. J.:
Studie on cell division. II. X-radiations as a division inhibiting agent.
J. Bact. 67 (1954) 394
- 68) Stehr, K.: Beiträge zur Biologie der Salmonella paratyphi B.
Zbl. Bakt. I. Orig. 173 (1958) 213-231 (I), und ebenda 175 (1959) 529-539 (II), und 177 (1960) 564-575 (III)
- 69) Stehr, K.: Über die Biologie therapieresistenter Enterobakterien und ihre Bedeutung für Klinik und Epidemiologie enteraler Infektionen im Säuglingsalter.
Beihefte z. Archiv f. Kinderheilk. Beiheft 49, Stuttgart 1963
- 70) Stein, W., Harm, W.:
Modellvorstellungen zur UV-Inaktivierung von Coli-Bakterien im Lichte von Reaktivierungseffekten.
Zschr. Naturforsch. 8 b (1953) 742

- 71) Terawaki, A., Greenberg, J.:
Effect of some radiomimetic agents on DNA-synthesis
in *E. coli* and transformation in *B. subtilis*.
Biochem. & Biophys. Acta 95 (1965) 170
- 72) Terry, D.R., Gaffar, A.; Sagers, A.D.:
Filament formation in *C. aceturici* under conditions
of elevated temperatures.
J. Bact. 91 (1966) 1625
- 73) Vömel, W.:
Über neue Nitrofurane.
III. Int. Congr. Chemother., Stuttgart 1963,
Thieme-Verlag 1964, Bd. I, S. 530
- 74) Vömel, W., Spingler, H.:
Experimentelle Unters. mit den neuen Furadantin-
formen.
Urologe 2 (1963) 1
- 75) Walter, R., Heilmeyer, L.:
Antibiotikafibel,
2. Aufl., Thieme-Verl. 1965
- 76) Wasilewski, E., v.:
Mikrobiologische Probleme der Chemotherapie.
(Persistenz und Resistenz).
Therapiewoche 15 (1965) 1090-1099
- 77) Webb, M.:
The effect of Magnesium on the growth and cell
division of various bacterial species in complex
media.
J. gen. Microbiol. 3 (1949) 410
- 78) Weuffen, W., Starke, H., Herrmann, B.:
Zusammenhang zwischen chemischer Konstitution
und keimwidriger Wirkung.
III. Unt. über bakteriostatischer Eigenschaften einiger
5-Nitrofururaldehyd-derivate.
Die Pharmazie 18 (1963) 490
- 79) Woody-Karrer, P., Greenberg, J.:
Resistance and cross-resistance of *E. coli* S-mutants
to the radiomimetic agent nitrofurazone.
J. Bact. 85 (1963) 1208-1216

- 80) Zähler, H.: Biologie der Antibiotika,
Springer-Verlag 1965
- 81) Zamenhof, S., de Giovanni, R., Rich, K.:
E. coli, containing unnatural pyrimidines in its DNA.
J. Bact. 71 (1956) 60-69
- 82) Zampieri, A., Greenberg, J.:
Nitrofurazon as a mutagen in E. coli.
Biochem. & Biophys. Res. Comm. 14 (1964) 172-176
- 83) Zampieri, A., Greenberg, J.:
Radiomimetic properites of 2-Aminopurin in E. coli.
J. Bact. 91 (1966) 1773
- 84) Zapp, E.: Neue pädiatrische Urologie.
Beiheft 40 z. Arch. Kinderheilk. (1960),
- 85) ZoBell, C.E., Cobet, A.B.:
Filament formation by E. coli at increased hydrostatic
pressures.
J. Bact. 87 (1964) 710

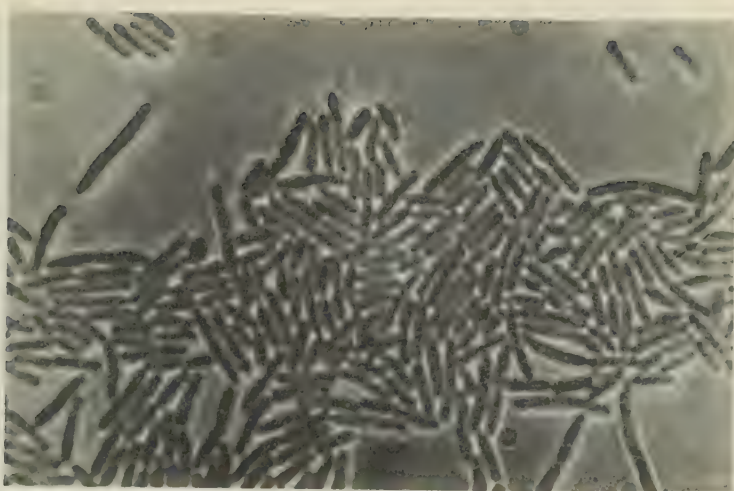


ABBILDUNG 1

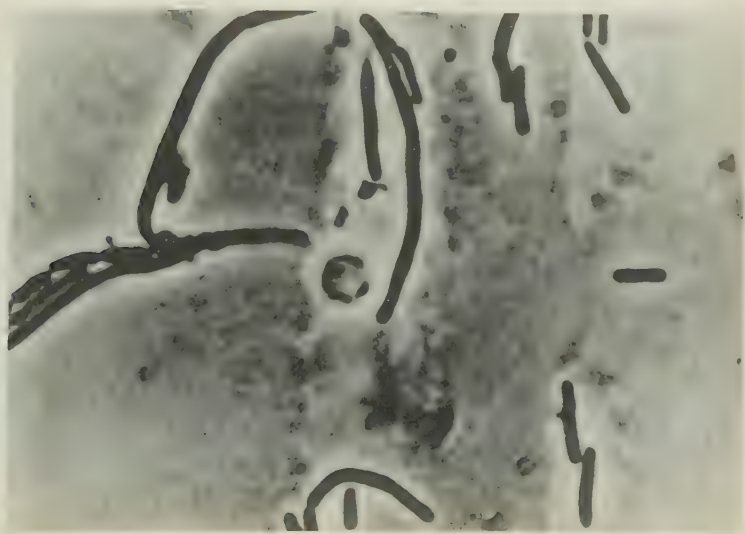


ABBILDUNG 2



ABBILDUNG 3



ABBILDUNG 4

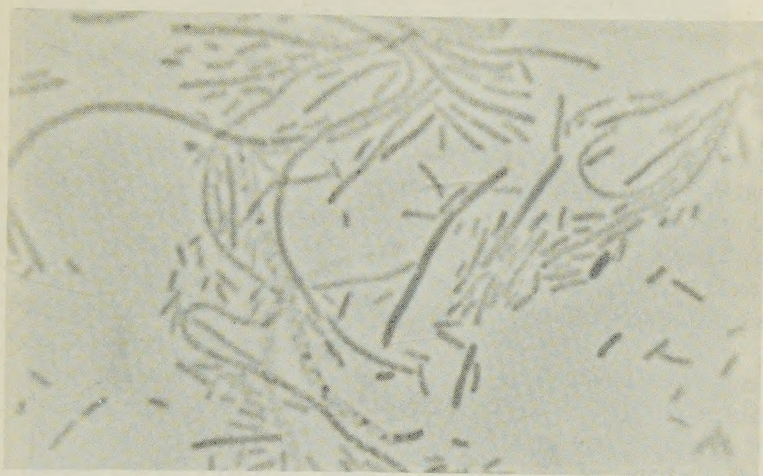


ABBILDUNG 5

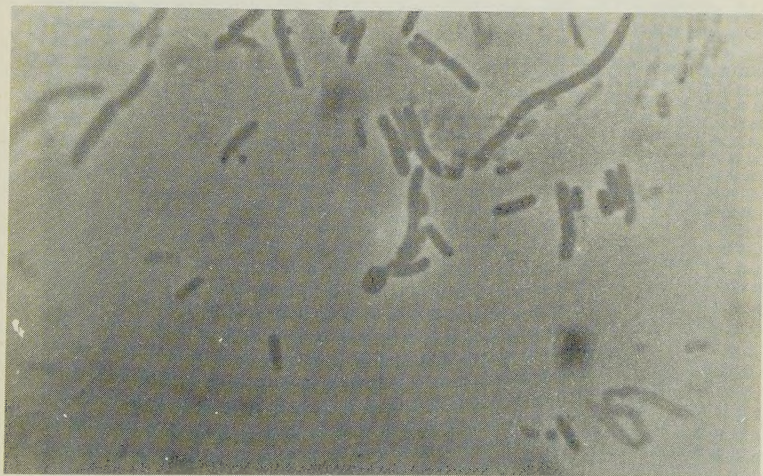


ABBILDUNG 6

